

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-146188

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月2日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I
C 1 2 N 15/00	Z N A	C 1 2 N 15/00 Z N A
A 0 1 K 67/027		A 0 1 K 67/027
C 0 7 K 14/47		C 0 7 K 14/47
16/18		16/18
C 1 2 N 5/10		C 1 2 P 21/02 C

審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-304721

(22) 出願日 平成8年(1996)11月15日

(71) 出願人 596013888

株式会社エイジーン研究所
神奈川県鎌倉市梶原200番地

(72) 発明者 今村 宰

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ
イジーン研究所内

(72) 発明者 菅原 稔

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ
イジーン研究所内

(72) 発明者 古市 泰宏

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ
イジーン研究所内

(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応するマウス遺伝子及び該遺伝子がコードするタンパク質

(57) 【要約】

【課題】 マウスWRN 遺伝子の提供。

【解決手段】 配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウスWRN 遺伝子、該遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブ、該遺伝子を含む組換え体DNA、該組換え体DNAによって形質転換された形質転換体、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチド、該ポリペプチドの製造方法、該ポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、該モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ、該遺伝子を用いて作られるノックアウトマウス及びトランスジェニック動物、並びに該遺伝子を含むWRN 遺伝子検出用試薬。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウスWRN遺伝子。

【請求項2】 マウスWRN遺伝子が、配列番号3で表される塩基配列を実質的に含むものである請求項1記載の遺伝子。

【請求項3】 配列番号1で表される塩基配列を実質的に含むマウスWRN遺伝子。

【請求項4】 請求項1～3のいずれか1項に記載の遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項5】 請求項1～3のいずれか1項に記載の遺伝子を含む組換え体DNA。

【請求項6】 請求項5記載の組換え体DNAによって形質転換された形質転換体。

【請求項7】 請求項6記載の形質転換体を培養し、得られる培養物からマウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドを採取することを特徴とする該ポリペプチドの製造方法。

【請求項8】 配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含む、マウスWRN遺伝子がコードするポリペプチド。

【請求項9】 請求項8記載のポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体。

【請求項10】 請求項8記載のポリペプチドと特異的に反応するポリクローナル抗体。

【請求項11】 請求項8記載のポリペプチドで免疫された抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることにより得られる、請求項9記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

【請求項12】 請求項4記載のオリゴヌクレオチドプローブを含む、マウスWRN遺伝子の検出用試薬。

【請求項13】 請求項8記載のポリペプチド、及び請求項9記載のモノクローナル抗体又は請求項10記載のポリクローナル抗体を含む、ウェルナー症候群の検出・診断用キット。

【請求項14】 請求項1～3のいずれか1項に記載の遺伝子の機能が失われるように処理されたノックアウトマウス。

【請求項15】 請求項1～3のいずれか1項に記載の遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応する新規なマウス遺伝子、該遺伝子がコードするタンパク質、該タンパク質の製造方法、並びに該タンパク質及び該遺伝子の用途に関する。

【0002】

【従来の技術】ウェルナー症候群とは、老化と密接に関連する複雑な病状を呈する常染色体劣性遺伝病である。ウェルナー症候群は、若年期に、一般的な老人に見られる特徴、例えば白髪化、ハゲ、糖尿病、心疾患、ガン、皮膚の退縮、皮膚の強皮症様変化、若年性白内障、早老、性腺機能低下などを示すことが知られている。

【0003】ところで、ウェルナー症候群患者由来の皮膚細胞（繊維芽細胞）を培養した場合に、その分裂寿命（継代数、細胞分裂できる回数など）は、同年齢の健康人からの繊維芽細胞の分裂寿命に比べて著しく短くなっていることが実験的に知られている（Richard G. A. Faragher et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp12030-12034 (1993)）。これらの事実は、ウェルナー症候群を惹起するウェルナー遺伝子が、本来はヒトの老化過程をコントロールしているものの一つであり、この遺伝子に何らかの変異が起こっていることを示唆している。

【0004】従って、ウェルナー遺伝子をクローニングすることにより、該遺伝子を遺伝子治療や遺伝子診断等に利用することが期待される。従来より、ウェルナー遺伝子は、ヒト由来のものが知られている（Science, 272, 258-262, 1996）。しかし、老化はヒトに限られるものではないため、ヒト以外の動物においてもウェルナー遺伝子に相当する遺伝子が存在することが考えられる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応する新規なマウス遺伝子及び該遺伝子がコードするタンパク質、該タンパク質の製造方法、並びに該遺伝子及び該タンパク質の用途を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題に基づいて鋭意研究を行った結果、マウス精巢又は脾臓由来のRNAからマウスウェルナー遺伝子（マウスWRN遺伝子）をクローニングすることに成功し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウスWRN遺伝子である。かかる遺伝子としては、例えば配列番号1又は3で表される塩基配列を実質的に含むものが挙げられる。

【0007】ここで、「実質的に」とは、本発明のポリペプチドがウェルナー症候群をもたらす機能を有する限り、また、本発明のマウスWRN遺伝子が本発明のポリペプチドを発現させる機能を有する限り、当該ポリペプチドに含まれるアミノ酸配列、又は当該遺伝子の塩基配列に欠失、置換、付加、挿入等の変異が生じてよいことを意味する。

【0008】従って、例えば配列番号2で表されるアミノ酸配列の第1番目のメチオニン（Met）が欠失しているものなども、このアミノ酸配列の変化によるタンパク質に含まれる。また、本発明のポリペプチドに含まれるア

ミノ酸をコードする塩基配列のほか、縮重コドンにおいてのみ異なる同一のポリペプチドをコードする縮重異性体も本発明の遺伝子に含まれる。

【0009】さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブである。さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子を含む組換え体DNAである。さらに、本発明は、前記組換え体DNAによって形質転換された形質転換体である。

【0010】さらに、本発明は、前記形質転換体を培養し、得られる培養物からマウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドを採取することを特徴とする該ポリペプチドの製造方法である。さらに、本発明は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含む、マウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドである。

【0011】さらに、本発明は、前記ポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。さらに、本発明は、前記ポリペプチドで免疫された抗体産生細胞とミエロマ細胞とを融合させることにより得られる、前記モノクローナル抗体を産生するハイブリドマである。

【0012】さらに、本発明は、前記オリゴヌクレオチドプローブを含む、マウスWRN遺伝子の検出用試薬である。さらに、本発明は、前記ポリペプチド、及び前記モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を含むウェルナー症候群の検出・診断用キットである。

【0013】さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子の機能が失われるように処理されたノックアウトマウス、又はマウスWRN遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物である。以下、本発明を詳細に説明する。

【0014】

【発明の実施の形態】本発明により明らかになったヒトのウェルナー症の原因遺伝子に対応するマウスの遺伝子（マウスWRN遺伝子）は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むものをコードするものである。本発明のポリペプチドは、図2に示すように、アミノ酸レベルでは、ヒトとマウスとの間で良く保存された7つのヘリカーゼ・モチーフを含む。また、図3に示すFISHの結果から明白なように、本発明のマウスWRN遺伝子は、マウス染色体第8番の8A4に存在することが確認された。さらに、本発明者らは、サザンブロット解析により、マウスWRN遺伝子はマウスゲノム上でシングルコピーとして存在している可能性を明らかにした（図4A）。なお、マウスWRN遺伝子に相当する他種生物由来の遺伝子は、Zoo Blotによる解析結果より、マウスWRN遺伝子の塩基配列とホモロジーを有していたことから（図4B）、公知技術によりクローニングすることが可能である。

【0015】マウスWRN遺伝子が各種臓器に於てどのよ

うに発現しているかを調べる多組織(Multi-Tissue)ノーザンブロット解析結果（図5）から、マウスWRN遺伝子は、脾臓及び精巣において強く発現し、肺、肝臓、腎臓において中程度に発現し、脳、心臓及び骨格筋においては、僅かしか発現していないことがわかった。

【0016】以上の結果を総合すると、マウスWRN遺伝子は、種を越えて比較的良く保存され（図4B）、かつ、マウスのさまざまな組織において高い発現が認められたことから（図5）、生体の基本的な恒常性の維持に関わる遺伝子の一つであることが強く示唆される。本発明の遺伝子は、ヒトのウェルナー症候群発症との関連を解明するための研究に有用であると共に、この遺伝子の発現制御の解明は、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明するうえでも有用であり、また、生命の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用である。

【0017】本発明のマウスWRN遺伝子は、例えば以下のようにして同定し取得することができる。

1. マウスWRN遺伝子のクローニング

マウスWRN遺伝子は、Long-distance (LD) PCR法及び Suppression PCR法の2つの原理に基づいて RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends; Frohman, M.A. et al., Methods Enzymol. Vol. 218, pp340-358 (1993)) を行うことにより得ることができる。すなわち、マウスWRN遺伝子は、ヒトのWRN遺伝子とホモロジーの高い部分配列を有するDNA断片、並びに該DNA断片よりも上流に位置するDNA断片（5'末端を有するDNA断片を含む）であって配列が未知のDNA断片及び3'末端を有するDNA断片であって配列が未知のDNA断片を増幅し、さらに、これらのDNA断片の融合により、完全長のcDNAとして得ることができる。

【0018】本発明では、完全長のcDNAのクローニングは、例えば市販のキット (Marathon™ cDNA Amplification Kit; CLONETECH 社) を用いて行うことができる。図1に、cDNAのクローニングの概要を示す。

【0019】まず、マウス由来のヒトWRN遺伝子とホモロジーの高い部分配列を有するDNA断片（部分cDNA断片）を増幅する。この部分cDNA断片は、配列は未知であるがマウス精巣又は脾臓由来のpoly(A)+RNAから得ることができる。すなわち、該RNAから逆転写酵素を用いてcDNAを合成し、RT-PCRにより部分cDNA断片を調製する（図1(1)、枠囲み部分）。次に、得られた部分cDNA断片の配列を決定した後、該部分cDNA断片の配列を基に4種類の遺伝子特異的プライマー (GSP) を設計する (5'GSP1、5'GSP2、3'GSP1及び3'GSP2)。GSPは、当該部分cDNA配列よりも5'側及び3'側の領域に存在するDNA断片の配列が未知であるものを増幅するために必要とされるプライマーである。GSPの配列は、当該部分cDNA配列から任意に選択することができ、その配列は化学合成により得ることができ

る。本発明では、当該部分cDNAよりも5'側の未知配列を増幅する際に使用するGSPを5'GSP1及び5'GSP2とし、当該部分cDNAよりも3'側の未知配列を増幅する際に使用するGSPを3'GSP1及び3'GSP2とする(図1(1)の枠囲み部分)。

【0020】次に、部分cDNAよりも5'側及び3'側に存在するDNA断片を増幅する。鋳型としては、市販のマウス精巢、脾臓等の由来のcDNA(例えば、CLONETECH社のcDNA Ready™)を用いることができる。この鋳型となるDNA断片の配列は未知であるが、各DNA断片の末端にはアダプター配列が付加されている。そこで、アダプター配列にハイブリダイズするプライマー(アダプタープライマー(AP)という)及び前記GSPをプライマーとして用いて、アダプターが連結された、配列が未知のcDNA断片の増幅反応(LD PCR)を2回行う。

【0021】例えば、図1(2)の反応では、まずAP1及び5'GSP1を用いてPCRを行い、得られた断片を鋳型として、次は前記AP1及び5'GSP1の位置よりも内側の領域にハイブリダイズすることができるプライマー(AP2及び5'GSP2)を用いてPCRを行う(nested PCR)。図1(3)及び(4)の反応についても同様である。但し、図1(3)の反応に用いる5'GSP3については、図1(2)の反応で得られた反応産物の配列を決定した後、当該配列を基に設計される。

【0022】本発明では、部分cDNA断片(配列番号17で表される)の位置を基準として、これよりも上流に位置するDNA断片を5'-RACE-1産物及び5'-RACE-2産物(それぞれ、図1(2)、(3)の反応産物である)とし、下流に位置するDNA断片を3'-RACE産物(図1(4)の反応産物)とする。

【0023】なお、APはアダプターの突出末端と同じ配列を持つため、アダプターにはアニーリングせず、一回目の増幅では、遺伝子特異的プライマー(GSP)からのみ伸長する(これをSuppression PCRという)。

【0024】次に、前記のようにして得られた5'-RACE-1産物、5'-RACE-2産物、部分cDNA断片及び3'-RACE産物のアセンブリを行う。すなわち、各断片間でオーバーラップしている部分をアニーリングさせる。上記各産物のアセンブリは、キット(cDNA Ready™; CLONETECH社)の説明書に従って行うことができる。その結果、5'-及び3'-両端を含む完全長のcDNAが得られる(図1(5))。

【0025】得られたcDNAの塩基配列の決定は、Hattoriら[Electrophoresis 13, 560-565 (1992)]により記載されたPCRをベースにした方法により行う。すなわち、Perkin Elmer社製の蛍光ダイデオキシターミネーターを含有するPRISM Sequencing Kitを使って反応を行い、Applied Biosystem社製のオートシーケンサー(モデルABI 373)で塩基配列を読み取り、附属のMac

intoshコンピュータによりデータの解析を行う。

【0026】なお、前記5'-RACE-1産物、5'-RACE-2産物、部分cDNA断片及び3'-RACE産物についても同様にして塩基配列を決定し、それぞれマウスWRN遺伝子の部分断片として得ることができる。

【0027】塩基配列が一旦決定されると、その後は、化学合成によって、又は決定された当該塩基配列から合成したプライマーを用いたPCRによって、あるいは該塩基配列を有するDNA断片をプローブとしてハイブリダイズさせることによって、所望の遺伝子を得ることができる。

【0028】配列番号18に5'-RACE-1産物、配列番号19に5'-RACE-2産物、配列番号17にヒトWRN遺伝子とホモロジーの高い部分cDNA断片、配列番号20に3'-RACE産物、並びに配列番号1及び3にWRN遺伝子の塩基配列を例示するが、本質的にWRN遺伝子活性を担持する配列であればこの配列に限定されるものではなく、欠失、挿入、置換、付加などによってその塩基配列に変異を導入することが可能である。なお、変異の導入は、公知の突然変異導入法(例えば宝酒造社のTAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kitを用いた方法)等により行われる。

【0029】II. BAC DNAを用いたDual-color FISH解析

本発明では、マウスWRN遺伝子の染色体上の存在位置を確認することを目的として、前記クローニングにより得られたcDNAを含むBAC DNAを用いたDual-color FISH解析が行われる。

【0030】FISH(Fluorescence in situ hybridization)とは、細胞核に蛍光標識をしたDNAプローブをハイブリダイズさせ、細胞核上でそのDNAの位置を目に見える形で検出する方法である。標本としては、分裂間期又は染色体がはっきり見える分裂中期の細胞が用いられる。

【0031】分裂中期の細胞は次の手順で得ることができる。マウス胚性幹細胞(Embryonic Stem細胞; 以下ES細胞という)をフィトヘムアグルチニン(PHA)で刺激して細胞分裂を促進し、コルセミドを用いて分裂中期で分裂を停止させる。細胞は酢酸/メタノール溶液で固定した後、スライドガラスの上に広げる。スライドガラス上の標本は、ホルムアミド及びSSC[Standard Saline Citrate; 0.15M NaCl, 0.015M Sodium Citrate (pH 7.0)]により変性させる。次に、ジゴキシゲニン又はビオチンで標識したDNAプローブを反応させると、この標識DNAは標本とハイブリダイズする。次に、ロダミン標識した抗ジゴキシゲニン抗体又はFITC-標識アビジンなどで処理して蛍光標識すると、DNAプローブがハイブリダイズした位置を、ロダミンについては赤色、FITCについては緑色のシグナルとして見ることができる。

【0032】III. cDNA クローンの解析

(1) サザンブロットによる解析

サザンブロットとは、制限酵素などによって切断したD

NA断片の中から目的とする遺伝子を検出することを目的とする手法である。

【0033】まず、DNA断片をアガロース・ゲルの電気泳動でサイズの違いに従い分離する。次に、アルカリ及び塩によってDNAを変性させ、ニトロセルロース・フィルターに移す。このフィルターを $[^{32}\text{P}]$ で標識したプローブとハイブリダイズさせ、フィルターをオートラジオグラフィーにかける。その結果、ハイブリダイズしたDNA断片が検出される。この方法を用いることで、遺伝子数(コピー数)、ファミリーの存在等を知ることができる。プローブとしては、前記完全長cDNAの少なくとも一部を含む断片(オリゴヌクレオチド)が用いられる。詳細については、実施例3に記す。

【0034】(2) ノーザンブロットによる解析
ノーザンブロットとは、RNAの混合物の中から特定のRNAを検出するための手法であり、また、目的のRNAのサイズ及び量を検出することを目的として使用される手法である。

【0035】細胞又は組織からのRNAの抽出は、例えば高濃度グアニジンチオシアネートを用いて行い、フェノール/クロロフォルムで除蛋白したのち、アルコール沈殿でRNAを精製する。アガロースゲル電気泳動により、RNAをサイズの違いで分画し、アルカリ及び塩により変性させる。次に、RNAをニトロセルロース・フィルターに移し、 $[^{32}\text{P}]$ でラベルしたcDNAプローブとハイブリダイズさせる。そして、オートラジオグラフィーで感光させ、プローブとハイブリダイズした目的のRNAを検出する。

【0036】この方法により、プローブに用いたcDNAの配列に対応するmRNAが検出され、かつ、目的の遺伝子の完全長のサイズ及び相対的な発現量を知ることができる。プローブとしては、例えばMarathon cDNA Kitを用いて得られた完全長cDNAの一部である3'-UT (278 bp)が用いられる。詳細については、実施例4に記す。

【0037】IV. 形質転換体の作製

本発明の形質転換体は、本発明の組み換え体DNAを、該組み換え体DNAを作製する際に用いた発現ベクターに適合する宿主中に導入することにより得られる。精製された遺伝子を、適当なベクターDNAの制限酵素部位又はマルチクローニングサイトに挿入して組換え体DNAを作製し、当該組換え体DNAを用いて、宿主細胞を形質転換する。

【0038】DNA断片を挿入するためのベクターDNAは、宿主細胞で複製可能なものであれば特に限定されず、例えば、プラスミドDNA、ファージDNA等が挙げられる。プラスミドDNAとしては、例えばプラスミド pUC118(宝酒造社製)、pUC119(宝酒造社製)、pBluescript SK+(Stratagene社製)、pGEM-T(Promega社製)等が挙げられ、ファージDNAとしては、例えばM13mp18、M13mp19等が挙げられる。

【0039】宿主としては、目的とする遺伝子を発現できるものであれば特に限定されず、真核細胞及び原核細胞のいずれをも用いることができる。例えば、大腸菌(*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチリス(*Bacillus subtilis*)等の細菌、サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)等の酵母、COS細胞、CHO細胞等の動物細胞などが挙げられる。

【0040】大腸菌等の細菌を宿主として用いる場合は、本発明の組換え体DNAが該宿主中で自立複製可能であると同時に、プロモーター、本発明のDNA、転写終結配列を含む構成であることが好ましい。例えば、大腸菌としてはXL1-Blue(Stratagene社製)、JM109(宝酒造社製)等が挙げられ、発現ベクターとしては、例えばpBTrp2等が挙げられる。プロモーターとしては、大腸菌等の宿主中で発現できるものであればいずれを用いてもよい。例えば、trpプロモーター、lacプロモーター、 P_L プロモーター、 P_R プロモーターなどの大腸菌やファージ等に由来するプロモーターが用いられる。

【0041】本発明では、形質転換は、例えば Hanahanの方法[Techniques for Transformation of *E. coli* in DNA Cloning, vol.1, Glover, D.M. (ed.) pp109-136, IRL Press (1985)]により行うことができる。

【0042】酵母を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして、例えばYEpl3、YCp50等が挙げられる。プロモーターとしては、例えばgal 1プロモーター、gal 10プロモーター等が挙げられる。酵母への組換え体DNAの導入方法としては、例えばエレクトロポレーション法(Methods. Enzymol., 194, 182-187(1990))、スフェロプラスト法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1929-1933(1978))、酢酸リチウム法(J. Bacteriol., 153, 163-168(1983))等が挙げられる。

【0043】動物細胞を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして例えばpcDNA1、pcDNA1/Amp(インビトロジェン社)等が用いられる。動物細胞への組換え体DNAの導入方法としては、例えば、エレクトロポレーション法、リン酸カルシウム法等が挙げられる。

【0044】ベクターDNAとしてプラスミドDNAを用いる場合、例えばEcoRI DNA断片を挿入する際、プラスミドDNAを制限酵素EcoRI(NEB社製)を用いて消化しておく。次いで、DNA断片と切断されたベクターDNAとを混合し、これに、例えばT4 DNAリガーゼ(宝酒造社製)を作用させて組換え体DNAを得る。

【0045】上記形質転換株のスクリーニングは、目的遺伝子の一部を含むDNA断片をプローブとしたコロニーハイブリダイゼーション、あるいは、目的の遺伝子の塩基配列に基づいた5'プライマー(FP)を合成し、次いで、相補鎖DNAの塩基配列に基づいた3'プライマー(RP)を合成し、これらのプライマーを用いたPCR法により、目的とする遺伝子を含むコロニーを選択することができる。

【0046】V. マウスWRN 遺伝子がコードするポリペプチドの生産

前記のようにして得られた組換え体DNAを保有する形質転換体を培養すれば、本発明の遺伝子がコードするポリペプチドを生産することができる。培養方法は、通常の固体培養法でもよいが、液体培養法を採用することが好ましい。

【0047】形質転換体を培養する培地としては、例えば酵母エキス、ペプトン、肉エキス等から選ばれる1種以上の窒素源に、リン酸水素二カリウム、硫酸マグネシウム、塩化第二鉄等の無機塩類の1種以上を添加し、更に必要により糖質原料、抗生物質、ビタミン等を適宜添加したものが用いられる。また、必要により培地にIPTG等を添加して、遺伝子の発現を誘導してもよい。培養開始時の培地のpHは7.2~7.4に調節し、培養は通常36~38℃、好ましくは37℃前後で14~20時間、通気攪拌培養、振盪培養等により行う。

【0048】培養終了後、培養物より本発明のポリペプチドを採取するには、通常のタンパク質精製手段を用いることができる。すなわち、リゾチーム等の酵素を用いた溶菌処理、超音波破碎処理、磨砕処理等により菌体を破壊し、本発明の遺伝子がコードするポリペプチドを菌体外に排出させる。次いで、浮過又は遠心分離等を用いて不溶物を除去し、粗ポリペプチド溶液を得る。

【0049】上記粗ポリペプチド溶液から、該ポリペプチドをさらに精製するには、通常のタンパク質精製法を使用することができる。例えば、硫酸塩析法、イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、電気泳動法等を、単独又は適宜組み合わせることにより行う。

【0050】VI. モノクローナル抗体の作製

本発明のマウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドに特異的なモノクローナル抗体は、以下のようにして得ることができる。

【0051】(1) 抗原の調製

前記の方法(IV)により得られたポリペプチドを緩衝液に溶解し、次いでアジュバントを添加する。アジュバントとしては、市販のフロイント完全アジュバント、フロイントの不完全アジュバント等が挙げられ、これらの何れのものも混合してもよい。

【0052】(2) 免疫及び抗体産生細胞の採取

上記のようにして得られた免疫原を哺乳動物、例えばラット、マウスなどに投与する。抗原の免疫量は1回に動物1匹当たり、10~500 μ g用いる。免疫部位は、主として静脈内、皮下、腹腔内に注入する。また、免疫の間隔は特に限定されず、数日から数週間間隔で、好ましくは1~3週間間隔で、2~5回、好ましくは3~4回免疫する。

【0053】最終の免疫日から2~7日後、好ましくは

4~5日後に、抗体産生細胞を採集する。抗体産生細胞としては、脾臓細胞、リンパ節細胞、末梢血細胞等が挙げられるが、脾臓細胞又は局所リンパ節細胞が好ましい。

【0054】(3) 細胞融合

抗体産生細胞と融合させるミエローマ細胞として、マウスなどの動物の一般に入手可能な株化細胞を使用する。使用する細胞株としては、薬剤選択性を有し、未融合の状態では選択培地(HAT培地：ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミンを含む)で生存できず、抗体産生細胞と融合した状態でのみ生存できる性質を有するものが好ましい。ミエローマ細胞の具体例としては、P3U-1(大日本製薬社製)、P3x63Ag8.653などのマウスミエローマ細胞株が挙げられる。

【0055】次に、上記ミエローマ細胞と抗体産生細胞とを細胞融合させる。細胞融合は、血清を含まないDME M、RPMI-1640培地などの動物細胞培養用培地中で、 10^6 細胞/mlの抗体産生細胞と 2×10^5 細胞/mlのミエローマ細胞とを等容量混合し、融合促進剤存在のもとで融合反応を行う。

【0056】細胞融合を促進させるためには、平均分子量1,500ダルトンのポリエチレングリコール等を使用することができる。また、電気刺激(例えばエレクトロポレーション)を利用した市販の細胞融合装置を用いて抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることもできる。

【0057】(4) ハイブリドーマの選択及びクローニング

細胞融合処理後の細胞から目的とするハイブリドーマを選別する。その方法として、細胞懸濁液を例えばウシ胎児血清含有RPMI-1640培地などで適当に希釈後、マイクロタイタープレート上に5~10細胞/ウェル程度まき、各ウェルに選択培地を加え、以後適当に選択培地を交換して培養を行う。その結果、選択培地で培養開始後、約14日前後から生育してくる細胞をハイブリドーマとして得ることができる。

【0058】増殖してきたハイブリドーマの培養上清中に、目的とする抗体が存在するか否かをスクリーニングする。ハイブリドーマのスクリーニングは、通常の方法に従えばよく、特に限定されない。例えば、ハイブリドーマとして生育したウェルに含まれる培養上清の一部を採集し、酵素免疫測定法(EIA; enzyme immuno assay)、RIA(radio immuno assay)等によって行うことができる。融合細胞のクローニングは、限界希釈法等により行い、最終的にモノクローナル抗体産生細胞であるハイブリドーマを樹立する。

【0059】(5) モノクローナル抗体の採取

樹立したハイブリドーマからモノクローナル抗体を採取する方法として、通常の細胞培養法又は腹水形成法等が採用できる。細胞培養法においては、ハイブリドーマを

10%ウシ胎児血清含有 RPMI-1640培地、MEM 培地又は無血清培地等の動物細胞培養培地中で、通常の培養条件（例えば37℃、5%CO₂濃度）で10~14日間培養し、その培養上清から抗体を取得することができる。

【0060】腹水形成法の場合は、ミエローマ細胞由来の哺乳動物と同種系動物の腹腔内にハイブリドーマを約5×10⁶個投与し、ハイブリドーマを大量に増殖させる。そして、1~2週間後に腹水または血清を採集する。

【0061】上記抗体の採取方法において、抗体の精製が必要とされる場合は、硫酸塩析法、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィーなどの公知の方法を適宜に選択して、又はこれらを組み合わせることにより精製することができる。

【0062】VII. ポリクローナル抗体の作製

(1) 抗原の調製

前記の方法(IV)により得られたポリペプチドを緩衝液に溶解し、次いでアジュバントを添加する。アジュバントとしては市販のフロイント完全アジュバント、フロイント不完全アジュバントを用いる。

【0063】(2) 免疫

動物としては、通常、ウサギ、モルモット、ヤギ、ヒツジなどを用いる。ウサギを例にとると、ウサギの足趾に、通常100μgから500μgのポリペプチドをフロイント完全アジュバントとともに皮下注射する。二週間後に同量の抗原をフロイント不完全アジュバントと混合して筋肉内注射をする。さらに二週間後に筋肉内注射を繰り返す、最終免疫の一週間後に耳より部分採血してEIA法等により抗体価を測定する。抗体価が目的の値に達していれば全採血し、抗体価が低ければ筋肉内注射を繰り返す、抗体価が目的の値に達するまで免疫を繰り返す。血清から硫酸分画による抗体の精製は、モノクローナル抗体の項(V)で述べた方法を採用できる。

【0064】VIII. マウスWRN 遺伝子及びその遺伝子がコードするポリペプチドの検出用試薬

マウスWRN 遺伝子は、種を越えて比較的良く保存され（図4B）、かつ、マウスのさまざまな組織において高い発現が認められたことから（図5）、生体の基本的な恒常性の維持に関わる未知の構成成分をコードしている遺伝子の一つであることが強く示唆され、この遺伝子の発現制御の解明は、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明するうえで有用であり、また、生体の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用であると共に、ウェルナー症候群病発症との関連を解明するための研究にも有用である。

【0065】本発明の遺伝子をウェルナー症候群の検出用試薬として使用する場合は、クローニングされたマウスWRN 遺伝子の少なくとも一部分を含むオリゴヌクレオチドをプローブとしてハイブリダイゼーションを行い、

サザン又はノーザンブロット法により検出が行われる。なお、オリゴヌクレオチドプローブとしては、DNA プローブ、RNA プローブ等が挙げられる。

【0066】また、本発明の遺伝子をコードするポリペプチドに対するポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体をウェルナー症候群の検出用試薬として使用する場合は、EIA、RIA又はウエスタンブロット解析により検出が行われる。

【0067】IX. 遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物

本発明においては、遺伝子の発現を正常に調節しているいくつかの重要な部位（エンハンサー、プロモーター、イントロン等）の一部に欠失、置換、挿入等の変異を起こさせることにより、本来の遺伝子の発現レベルと比較して人工的に上昇又は下降するように修飾することができる。

【0068】上記変異の導入は、公知のいずれの手法により行うことができ、例えば、点突然変異導入キット（例えば宝酒造社のTAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kit）等を用いることができる。トランスジェニック動物としては、例えばトランスジェニックマウス、トランスジェニックラット等が挙げられる。

【0069】前記変異を導入した遺伝子を保有するベクターとしては、WRN 遺伝子を過剰発現させるようなベクター、逆にその発現を抑制するようなアンチセンスのベクターの二つが考えられる。いずれの場合にも、遺伝子の選択のためのポジティブ選別用の薬剤（例えば、ネオマイシンなど）耐性遺伝子を連結させておく。

【0070】細胞への遺伝子の挿入は、受精卵に直接DNAを注入する方法も使用し得るが、ES細胞は、培養が可能でしかもこの細胞からマウス等を発生させることができるという利点を有しているため、各種ES細胞を用いる方法がより効率的で好ましい。ES細胞としては、例えばTT2細胞が挙げられる（相沢慎一、ジーンターゲットイング、1995年、羊土社）。

【0071】WRN 遺伝子を含む上記ベクターDNAをエレクトロポレーションによりES細胞へ導入し、ネオマイシンでポジティブ選別し、目的の変異ES細胞を得る。上記ES細胞を、胚胎盤胞又は8細胞期胚に毛細管等を用いて注入する。その後、胚胎盤胞又は8細胞期胚を直接仮親の卵管に移植するか、一日培養して胚盤胞まで発生したものを仮親の子宮に移植する。仮親から生まれた子のうちキメラ動物を選ぶ。キメラの寄与率が高い動物は、生殖系列の可能性が高いが、キメラ動物を正常動物と交配することにより、生殖系列のキメラ動物であることの確認が可能である。生殖系列のキメラ動物と正常動物との交配により、ヘテロ接合体動物が得られ、ヘテロ接合体同士の交配によりホモ接合体動物を得ることができる。

【0072】X. ノックアウトマウス

本発明のノックアウトマウスは、マウスWRN 遺伝子の機能が失われるように処理されたものである。その処理方法について説明する。マウスWRN 遺伝子を含むゲノムDNAをPCR 又はゲノムライブラリーより得、そのいずれかのエクソンの中に neo耐性遺伝子を挿入したベクターを構築する。この操作により、このエクソンの機能は破壊される。これと同時に、このベクターの中にネガティブ選別用のチミジンキナーゼ (tk) 遺伝子又はジフテリア (DT) 毒素遺伝子を繋げておく。エレクトロポレーションにより該ベクターDNAをES細胞に導入する。次に、この細胞をポジティブ選別用のネオマイシン及びネガティブ選別用の核酸類似体FIAU (fluoriodoadenosyluracil)、又はジフテリア毒素の存在下で培養する。この操作により非相同組換えを起こしたジフテリア毒素感受性細胞、及び組換えを全く起こさないG418感受性細胞が除去され、相同組換えを起こした細胞のみが残る。この細胞では、破壊されたエクソンを含む遺伝子がノックアウトされる。

【0073】得られた細胞をマウスの胚胎盤胞又は8細胞期胚に注入する。その後は、トランスジェニック動物の作製と同様の手法により、ノックアウトマウスを作製することができる。

【0074】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例にその技術的範囲を限定するものではない。

【0075】〔実施例1〕Marathon™ cDNA Amplification Kit を用いたマウスWRN cDNAのクローニング

(1) RT-PCRによるマウスWRN 遺伝子の部分cDNA断片の調製

(i) 逆転写によるcDNAの調製及び増幅

【0076】Poly(A)+RNA (CLONETECH 社) 約1 µg、ジチオスレイトール、dNTP (dATP, dCTP, dGTP及びdTTP)、逆転写酵素用バッファー及び逆転写酵素 Super Script IIを含む反応液を、42°Cで30分反応させ、その後 RNase処理をしてcDNAを調製した。この cDNAをテンプレートとし、AG1897 (配列番号8) 及びAG1911 (配列番号9) をプライマーとして、Taq DNA ポリメラーゼを用い、RT-PCR反応を行った。

【0077】RT-PCRは、1.5 mM MgCl₂、20 mM dNTP、1x Perkin-Elmer Cetus buffer、各プライマー0.3 mM、及び0.25 unit Taq ポリメラーゼを含む10 µl の混合反応液中で行った。まず、上記反応液を94°Cで5分反応させ、次に、94°Cで30秒、55°Cで5秒及び72°Cで1分の反応を1サイクルとしてこれを35サイクル行なった。得られた反応液をさらに72°Cで5分反応させてDNA溶液を得た。

【0078】(ii) 塩基配列決定のためのRT-PCR産物の調製

上記DNA溶液、T4 DNAリガーゼ (宝酒造社製)、バッ

ファー (宝酒造社製)、及びpGEM-Tベクター (Promega 社製)を含む溶液を15°Cで3時間反応させて、RT-PCR産物の断片をpGEM-Tベクターに組み込んだ。このベクターで大腸菌JM109をトランスフォームさせ、この大腸菌を、X-gal、IPTG及びアンピシリン (最終濃度50 µg/ml) を含むLBバクテアグアプレートに播いた。

白色の大腸菌コロニーについて、アンピシリン (最終濃度50 µg/ml) を含むLB培地で、37°Cで16時間以上振盪培養し、Kurabo社製のロボット (PI-100Σ) を用いてプラスミド DNAを回収・精製した。

【0079】RNase 処理によりRNAを分解した後、20% ポリエチレングリコール/2.5M NaCl溶液で小分子化合物を除き、エタノール沈殿を行い、DNAシークエンス用の試料とした。通常、7 µlを1.5 %アガロースゲルにより解析し、特異的な増幅が認められた場合、5 µlを直接塩基配列の解析に用いた。

【0080】(iii) 塩基配列の決定

目的とするDNA断片をpGEM-Tベクター (Promega 社製) に挿入し、大腸菌で増殖させた後、プラスミドをロボット (Kurabo 社製 PI-100Σ) を用いたアルカリ法により精製した。得られた精製プラスミドを RNaseで処理した後、ポリエチレングリコール/食塩水の溶液で処理して小分子を除き、DNAを精製した。

【0081】精製されたDNAを鋳型DNAとして、非標識プライマー、4種類の蛍光標識ヌクレオチド-5'-トリフォスフェイト、及びTaq ポリメラーゼを加えた反応系でPCRを行った。

【0082】反応混合液は以下の通りである。

Thermal Ready Reaction Mix	8 µl
鋳型DNA	2.0 µl
プライマー	2pmol/µl
dH ₂ O	8.5 µl

【0083】PCRは、96°Cで10秒 (変性)、55°Cで5秒 (アニーリング) 及び60°Cで4分 (伸長) の反応を1サイクルとしてこれを25サイクル行なった。この反応では、無作為に蛍光色素の入ったDNA断片が合成され、それをシークエンサーで解析することで、最終的には連続した塩基配列を決定することができる。

【0084】得られたcDNAクローンは、下記のプライマーを用いて、Applied Biosystem 社製の自動DNAシークエンサー (model ABI 373) により行なった。

M13F側 配列番号4

M13R側 配列番号5

SP6 側 配列番号6

T7 側 配列番号7

その結果、配列番号17で表される1.4 kbのcDNAが得られた。

【0085】次に、RT-PCR法により得られたマウスWRNの部分cDNA断片 (配列番号17) の配列を基に、各プライマー、すなわち該cDNAの相補鎖上に5' GSP1 (配列番号1

0) 及び5'GSP2 (配列番号11)、そして該cDNA鎖上に3'GSP1 (配列番号13) 及び3'GSP2 (配列番号14) を作製した。

【0086】(2) 部分cDNA断片の5'-側及び、3'-側に存在する未知配列のcDNA断片の増幅
マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™ (CLONETECH社) を起源にして、(i)5'-RACE-1及び(ii) 5'-RACE-2、並びに(iii) 3'-RACE を行った。以下、各RACEについて順に説明する。

【0087】(i) 5'-RACE-1 産物の増幅

(i-a) 1st LD PCR

マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™をテンプレートにして、AP1(配列番号15) 及び5'GSP1 (配列番号10) を用いて、以下の組成及びサイクルプログラム (表1 及び2) によりPCR 反応を行った。

【0088】

【表1】

表1. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP1 (配列番号10) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス
	36 μ l dH ₂ O
	5 μ l 10×KlenTaq PCR buffer
	1 μ l 10mM dNTP
	1 μ l 50×KlenTaq DNA polymerase
50 μ l (全量)	

【0089】

【表2】

表2. PCRサイクルプログラム

1. (94℃で2分) ×1サイクル
2. (94℃で30秒, 68℃で4分) ×30サイクル
3. 4℃で静置

【0090】(i-b) 2nd LD PCR

1st PCR 産物を 1×TE(pH8.0)で50倍希釈したものの 5 μ lをテンプレートにして、nestedプライマー (AP2(配列番号16) 及び GSP2(配列番号11)) を用いてPCR 反応を

行った (表3 及び4) 。

【0091】

【表3】

表3. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP2 (配列番号11) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0092】

【表4】

表4. PCRサイクルプログラム

1. (94℃で2分) ×1サイクル
2. (94℃で30秒, 68℃で4分) ×20サイクル
3. 4℃で静置

【0093】2nd PCR 産物 10 μ lを 1.2%アガロースゲル電気泳動後、EtBr染色して、マウス WRN cDNA の5'端部分である約1.8kbpの断片 (配列番号18) の増幅を確認した。

【0094】(ii) 5'-RACE-2産物の増幅

(ii-a) 1st LD PCR

マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™をテンプレートにして、AP1(配列番号15) 及び5'GSP2 (配列番号11) を用いて、以下の組成及びサイクルプログラム (表5 及び6) によりPCR 反応を行った。

【0095】

【表5】

表5. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス脾臓cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP2 (配列番号11) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0096】

【表6】

表6. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30 サイクル
3.	4℃で静置

【0097】(ii-b) 2nd LD PCR

1st PCR 産物を、1xTE (pH8.0) で50倍希釈したものの 5 μ l をテンプレートにして、nestedプライマー (AP2 (配列番号16) 及び5'GSP3 (配列番号12) を用いてPCR 反応を行った (表7及び8)。なお、5'GSP3 (配列番号12)

は、前記5'-RACE-1 産物の配列を基に設計し合成したものである。

【0098】

【表7】

表7. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP3 (配列番号12) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0099】

【表8】

表8. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 20 サイクル
3.	4℃で静置

【0100】2nd PCR 産物 10 μ l を 1.2%アガロースゲル電気泳動後、EtBr染色して、マウスWRN cDNAの5'端部分である約1.2kbpの断片 (配列番号19) の増幅を確認した。

5'-RACE 同様、マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™ をテンプレートにして、AP1 (配列番号15) 及び3'GSP1 (配列番号13) を用いてPCR 反応を行った (表9及び10)。

【0101】(iii) 3'-RACE産物の増幅

【0102】

(iii-a) 1st LD PCR

【表9】

表9. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	3'GSP1 (配列番号13) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0103】

【表10】

表10. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30 サイクル
3.	4℃で静置

【0104】(iii-b) 2nd LD PCR
1st PCR 産物を、1x TE (pH8.0) で50倍希釈したものの 5 μ l をテンプレートにして、nestedプライマー (AP2 (配

列番号16) 及び3'GSP2 (配列番号14) を用いてPCR反応を行った。

【0105】なお、プライマーとして3'GSP2を使う以外

は、表3及び4に記載の条件と同様である。2nd PCR 産物 15 μ lを 1.2%アガロースゲル電気泳動にかけた後、EtBr染色した結果、約1.3kbpのマウスWRN cDNA 3'-端部分断片(配列番号20)の特異的増幅を確認した。

【0106】(3) マウスWRN の全長cDNA

前記(2)により得られた3種類の断片(5'-RACE-1 産物、5'-RACE-2 産物及び3'-RACE産物)をpGEM-Tベクター(Promega 社製)にサブクローニングし、各断片の配列決定を行った。そして、前記(1)で得られた部分cDNA断片と前記3種類の断片とを結合させることにより、配列番号1で表される全長約5.1kbpの完全長のマウスWRN cDNAを得ることができた。

【0107】また、配列番号1で表される塩基配列がコードする本発明のポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号2に、該アミノ酸配列をコードするDNAの塩基配列を配列番号3に示す。

【0108】〔実施例2〕BAC DNAの精製及びFISH

純度の高いBAC DNA は、塩化セシウム(CsCl)密度勾配遠心法で分離精製し、FISHによる解析に用いた。

【0109】(1) BAC クローンの培養法

BAC クローンからの DNAの回収・精製は、Smoller 〔Chromosoma, 100, 487-494(1991)〕によって報告された方法に変更を加えて行った。すなわち、単一 BACファージクローンを含む大腸菌コロニーを最終濃度12.5 μ g/mlのクロラムフェニコールを含む1LのLB培養液中へ懸濁し、37℃で一晩振盪培養した。

【0110】(2) CsCl密度勾配遠心法によるBAC DNA の精製

BAC DNAは、上記(1)に記載した方法により得られた菌体から、通常のアリカリ-SDS法〔Birnboim and Doly, Nucleic Acids Res. 7, 1513-1523 (1979)〕により調製し、CsCl密度勾配遠心法により精製した。

【0111】冷却遠心分離(3,500rpm \times 15分)により回収した菌体に、50mlの50mM Sucrose-10mM EDTA-25mM Tris-HCl(pH 8.0)と、50 mg/mlのリゾチーム溶液を1.5 ml加え、穏やかに室温で5分インキュベートした。引き続き、100mlの0.2M NaOH-1%SDS溶液を加え、穏やかに氷上で5分インキュベートした。さらに、75mlの3M KAc-11.5%氷酢酸を加え、穏やかに氷上で5分インキュベートした。

【0112】冷却遠心分離(4,000 rpm \times 15分)により上清を回収し、そこに最終濃度50 μ g/mlとなるようにRNase 溶液を加え、37℃で1時間インキュベート後、同量の2-プロパノールを加え -20℃で1時間放置した。冷却遠心分離(6,000rpm \times 15分)後、デカンテーションにより上清を除去し、P1/PAC DNAを含む沈殿を70%EtOHで洗浄後、完全に風乾させた。6mlの10mM Tris-HCl-1mM EDTA (pH 8.0)を加えて沈殿を溶解させ、そこに6gのCsClを加えて十分に溶解させ、さらに10mg/ml エチジウムブロミドを100 μ l 加え、-20℃で20分放置した。冷却遠

心分離(6,000rpm \times 10分)後上清を回収し、22℃で100,000rpm \times 6時間以上の超高速遠心により、BAC DNA をバクテリアゲノムと分離した。UV照射下で BAC DNAを含むバンドを回収後、イソアミルアルコールでエチジウムブロミドを除き、また、2度の透析によりCsClを除き、BAC DNAを精製した。透析バッファーとして10mM Tris-HCl-1.25mM EDTA (pH 8.0)を用いた。このBAC DNA をFISHによる解析に用いた。

【0113】(3) FISH

マウスES細胞をPHAで刺激して細胞分裂を促進し、コルセミドを用いて分裂中期で分裂を停止させた。細胞は酢酸/メタノール溶液で固定した後に、スライドガラスの上に広げた。スライドガラス上の標本はホルムアミドとSSC〔Standard Saline Citrate; 0.15M NaCl, 0.015M Sodium Citrate (pH 7.0)〕により変性させた。次に、ジゴキシゲニンで標識したマウスWRN 遺伝子を含む BAC DNA (BAC-#11315 DNA) プローブを反応させて標本とハイブリダイズさせた。そして、FITC- 標識した抗ジゴキシゲニン抗体で処理して標本を蛍光標識した。

【0114】その結果、図3に示すように、FITCのシグナルは、第8染色体のテロメアを特異的に染める標準 DNAプローブの近傍の短腕部分に存在した。従って、マウス WRN遺伝子を含むBAC-#11315 DNAは、第8染色体、8A4 領域に存在することが分かった。

【0115】〔実施例3〕マウスWRN 遺伝子のサザンブロットによる解析

標識された核酸プローブと相補的な塩基配列を持つマウスWRN 遺伝子DNAの領域を同定するために、次のようにサザンハイブリダイゼーションを行った。

【0116】(1) マウス肝臓及びヒト胎盤由来のゲノム DNA

制限酵素(BamHI, BglIII, EcoRI, HindIII及び PstI)で消化したマウス肝臓及びヒト胎盤由来のゲノム DNA 10 μ gを、0.8%アガロースゲル電気泳動により分離した。ゲルを0.5N NaOH-1.5M NaCl溶液150ml に浸し、30分間ゆっくり振盪し、アルカリ変性させた。ゲルを脱イオン水で軽く洗い、0.5M Tris-HCl(pH 7.5), 1.5M NaCl 溶液 150mlに浸し、30分間ゆっくりと振盪し、中和反応させた。

【0117】一方、ゲルと同じ大きさに切ったニトロセルロース膜(Amersham社製)を蒸留水にて湿らせた後、2 \times SSC(0.3M NaCl, 0.03M クエン酸ナトリウム(pH 7.0))に浸した。トレイに20 \times SSC 溶液を 200ml入れ、スポンジを浸し、次いで適当な大きさの濾紙(Whatmann 3 MM)を2 \times SSC に浸した後、スポンジの上に載せた。

【0118】次に、この濾紙上に前記のように処理したアガロースゲルを載せ、そしてその上にニトロセルロース膜を載せ、さらに同じ大きさの濾紙、ペーパータオルの束及び重しを載せ、一晩トランスファーさせた。

【0119】トランスファー終了後、紫外線照射(波長

260 nm、120 mJ/cm²)によりゲノムDNAをニトロセルロース膜へ固定し、完全長のマウスWRN cDNA断片を、後述の方法に従い放射性ラベルしてマウスWRN 遺伝子の検出プローブとし、最終的にKodack社製のX線フィルムによるオートラジオグラフィーにより検出した(図4)。

【0120】なお、マウスWRN プレハイブリダイゼーションバッファーには、5×SSPE、10×Denhardt's溶液、2% SDS及び100μg/ml変性サケ精子DNA断片を含むものを用いた。

【0121】結果を図4に示す。図4Aは、ヒト胎盤(レーン1〜5)及びマウス肝臓(レーン6〜10)由来のゲノムDNAを所定の制限酵素で消化し、アガロース電気泳動で分離後、ニトロセルロース膜にブロットし、これを、³²P標識の完全長マウスWRN cDNAをプローブにハイブリダイズし、検出した結果である。

【0122】図4A中、レーン1及び6はBamHI、レーン2及び7はBglII、レーン3及び8はEcoRI、レーン4及び9はHindIII、レーン5及び10はPstIで消化した断片のものである。図4Aの結果から、マウスWRN 遺伝子は、マウスゲノム上でシングルコピーとして存在している可能性が示唆される。

【0123】(2) Zoo Blot

9種類の動物由来のゲノムDNA 各4μgをアガロース電気泳動して、ナイロン膜にブロットしたプライメドフィルター(Clontech社製)を使用した(図4B)。マウスWRN遺伝子の検出プローブは、前述と同様で、ハイブリダイゼーション及び洗浄条件は、Clontechのプロトコールに従った。図4Bより、マウスWRN 遺伝子は、種を越えて良く保存されていることがわかった。

【0124】なお、ゲノムDNAの由来は以下の通りである。a、ヒト；b、サル；c、ラット；d、マウス；e、イヌ；f、ウシ；g、ウサギ；h、ニワトリ；i、酵母。

【0125】〔実施例4〕マウスWRN のノーザンブロットによる解析

(1) マウスWRN のノーザンブロット解析

(i) マウス多組織ノーザン(Multiple Tissue Northern; MTN) ブロット

8種類のマウスの組織・臓器より抽出した poly(A)+ RNA 各2μgをアガロース電気泳動して、ナイロン膜にブロットしたプライメドフィルター(Clontech社製)を使用した(図5)。

【0126】(ii) マウスWRN cDNA プローブ

マウスWRN cDNAの3'-UT 部分(278 bp)を後述の方法に従い放射性ラベルし、これをマウスWRN 遺伝子の検出プローブとして用いた。

【0127】(2) ハイブリダイゼーション

(i) プレハイブリダイゼーション

フィルターを弁当箱型ポリ容器の中で、100 mlのプレハイブリダイゼーションバッファーに浸し、42℃で4時間インキュベーションした。プレハイブリダイゼーション

バッファーには、50%ホルムアミド、5×SSPE、10×Denhardt's溶液、2% SDS及び100μg/ml 変性サケ精子DNA断片を含むものを用いた。

【0128】(ii) マウス WRN cDNA プローブの放射性ラベリング

テンプレートとして前述のマウスWRN cDNA断片50 ng、プライマーとしてランダムヘキサマー50 pmolを用い、ランダムプライマー-DNAラベリングキットVer.2(宝酒造社製)により[α-³²P]-dCTP(NEN社製、第一化学薬品社製)で放射性ラベルした。

【0129】(iii) ハイブリダイゼーション

プレハイブリダイゼーションバッファーを棄て、新たに50mlのプレハイブリダイゼーションバッファーを加え、気泡がフィルターの下に入りこまないように穏やかに振盪した。これに ³²P-dCTP で放射性ラベルしたプローブを比活性が約1×10⁶cpm/mlとなるように加え、42℃で16時間ハイブリダイズした。

【0130】ハイブリダイゼーションの後、フィルターに対し、100 mlの2×SSC、0.1% SDS溶液を用いて室温で15分のリンスを2回繰り返し、次に100 mlの0.2×SSC、0.1% SDS溶液を用いて室温で15分のリンスを2回行った。フィルターがやや湿った状態になるまで水分を除き、サランラップ(旭化成社製)にはさんで BAS1500 システム(富士フィルム社製)によるオートラジオグラフィー解析を行った。

【0131】(3) Fuji BAS1500システムによる解析
輝尽性蛍光体を用いた放射線エネルギーメモリ型2次元センサー(イメージングプレート；IP)に、X線フィルム同様にサンプルを密着露光させ、このIPをHe-Ne レーザー光で励起させ、露光量に応じて放出される蛍光をPSL(Photo Stimulated Luminescence)というデジタル量に変換して定量した。定量はBAS1500 システムを用いた。このシステムによる定量値の直線性は良好であり、バックグラウンドの減算、指定領域内の放射線強度の計測、比較が行える。

【0132】(4) マウスWRN mRNAの組織特異的発現結果
マウス各組織・臓器由来の2mg poly(A)+RNAを含む MTN ブロット(CLONTECH社製)に³²P標識したマウスWRN cDNAの3'-UT をプローブにハイブリダイズさせた。

【0133】マウスWRN mRNAの発現は、各種の臓器で幅広く認められ、図5のようなパターンを示した。すなわち、マウスWRN 遺伝子は、脾臓及び精巣に於て強く発現し、肺、肝臓、腎臓において中程度に発現し、脳、心臓及び骨格筋に於ては僅かしか発現していないことがわかった。Poly (A)+ RNAの起源は以下の通りである。

a、心臓；b、脳；c、脾臓；d、肺；e、肝臓；f、骨格筋；g、腎臓；h、精巣。

【0134】

【発明の効果】本発明により、マウスWRN 遺伝子が提供される。本発明のマウスWRN 遺伝子は、ヒトのウェルナ

一症候群病発症との関連を解明するための研究に有用であると共に、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明うえても有用であり、また、生命の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用である。

【0135】さらに、本発明のマウスWRN 遺伝子は、ウェルナー症候群病発症との関連性のある病気の検査・予防のための診断プローブとして、あるいは、マウス個体の発生に関する医科学的、細胞生物学的、免疫学的、生化学的及び分子生物学的研究のための試薬として有用である。

【0136】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：5058

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

他の情報：mouse WRN helicase

配列：

```

GGCAGGCC AGACCAGAAG TGCACCGAGG CGCCCGTTGG TATAAAGTTA GTAAATGTGA 60
GGCCTGTCTC GATGCCTGGG TCCTGGGCTT TGGTCTCAG TCCTCCATAA ATCATCCTGC 120
TGGAGGAGAA GACCCCTAGA TCTGGCTCTT CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC AAATGAAAAT 180
AAA ATG GAA ACC ACT TCA CTA CAG CGG AAA TTT CCA GAA TGG ATG TCT 228
Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser
      1          5          10          15
ATG CAG AGT CAA AGA TGT GCT ACA GAA GAA AAG GCC TGC GTT CAG AAG 276
Met Gln Ser Gln Arg Cys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Cys Val Gln Lys
      20          25          30
AGT GTT CTT GAA GAT AAT CTC CCA TTC TTA GAA TTC CCT GGA TCC ATT 324
Ser Val Leu Glu Asp Asn Leu Pro Phe Leu Glu Phe Pro Gly Ser Ile
      35          40          45
GTT TAC AGT TAT GAA GCT AGT GAT TGC TCC TTC CTG TCT GAA GAC ATT 372
Val Tyr Ser Tyr Glu Ala Ser Asp Cys Ser Phe Leu Ser Glu Asp Ile
      50          55          60
AGC ATG CGT CTG TCT GAT GGC GAT GTG GTG GGA TTT GAC ATG GAA TGG 420
Ser Met Arg Leu Ser Asp Gly Asp Val Val Gly Phe Asp Met Glu Trp
      65          70          75
CCG CCC ATA TAC AAG CCA GGG AAA CGA AGC AGA GTC GCA GTG ATC CAG 468
Pro Pro Ile Tyr Lys Pro Gly Lys Arg Ser Arg Val Ala Val Ile Gln
      80          85          90          95
TTG TGT GTG TCT GAG AAC AAA TGT TAC TTG TTT CAC ATT TCT TCC ATG 516
Leu Cys Val Ser Glu Asn Lys Cys Tyr Leu Phe His Ile Ser Ser Met
      100          105          110
TCA GTT TTC CCC CAG GGA TTA AAA ATG TTA CTA GAA AAC AAA TCA ATT 564
Ser Val Phe Pro Gln Gly Leu Lys Met Leu Leu Glu Asn Lys Ser Ile
      115          120          125
AAG AAG GCA GGG GTT GGG ATT GAA GGG GAC CAG TGG AAA CTT CTG CGT 612
Lys Lys Ala Gly Val Gly Ile Glu Gly Asp Gln Trp Lys Leu Leu Arg
      130          135          140
GAT TTT GAC GTC AAG TTG GAG AGT TTT GTG GAG CTG ACG GAT GTT GCC 660
Asp Phe Asp Val Lys Leu Glu Ser Phe Val Glu Leu Thr Asp Val Ala
      145          150          155
AAT GAA AAG TTG AAG TGC GCA GAG ACC TGG AGC CTC AAT GGT CTG GTT 708
Asn Glu Lys Leu Lys Cys Ala Glu Thr Trp Ser Leu Asn Gly Leu Val
      160          165          170          175
AAA CAC GTC TTA GGG AAA CAA CTT TTG AAA GAC AAG TCC ATC CGC TGC 756
Lys His Val Leu Gly Lys Gln Leu Leu Lys Asp Lys Ser Ile Arg Cys

```

	180	185	190	
AGC AAT TGG AGT AAT TTC CCC CTC ACT GAG GAC CAG AAA CTG TAT GCA				804
Ser Asn Trp Ser Asn Phe Pro Leu Thr Glu Asp Gln Lys Leu Tyr Ala				
	195	200	205	
GCC ACT GAT GCC TAT GCT GGT CTT ATC ATC TAT CAA AAA TTA GGA AAT				852
Ala Thr Asp Ala Tyr Ala Gly Leu Ile Ile Tyr Gln Lys Leu Gly Asn				
	210	215	220	
TTG GGT GAT ACT GTG CAA GTG TTT GCT CTA AAT AAA GCA GAG GAA AAC				900
Leu Gly Asp Thr Val Gln Val Phe Ala Leu Asn Lys Ala Glu Glu Asn				
	225	230	235	
CTA CCT CTG GAG ATG AAG AAA CAG TTG AAT TTA ATC TCC GAA GAA ATG				948
Leu Pro Leu Glu Met Lys Lys Gln Leu Asn Leu Ile Ser Glu Glu Met				
240	245	250	255	
AGG GAT CTA GCC AAT CGT TTT CCA GTC ACT TGC AGA AAT TTG GAA ACT				996
Arg Asp Leu Ala Asn Arg Phe Pro Val Thr Cys Arg Asn Leu Glu Thr				
	260	265	270	
CTC CAG AGG GTT CCT GTA ATA TTG AAG AGT ATT TCA GAA AAT CTC TGT				1044
Leu Gln Arg Val Pro Val Ile Leu Lys Ser Ile Ser Glu Asn Leu Cys				
	275	280	285	
TCA TTG AGA AAA GTG ATC TGT GGT CCT ACA AAC ACT GAG ACT AGA CTG				1092
Ser Leu Arg Lys Val Ile Cys Gly Pro Thr Asn Thr Glu Thr Arg Leu				
	290	295	300	
AAG CCG GGC AGT AGT TTT AAT TTA CTG TCA TCA GAA GAT TCA GCT GCT				1140
Lys Pro Gly Ser Ser Phe Asn Leu Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Ala				
	305	310	315	
GCT GGA GAA AAA GAG AAA CAG ATT GGA AAA CAT AGT ACT TTT GCT AAA				1188
Ala Gly Glu Lys Glu Lys Gln Ile Gly Lys His Ser Thr Phe Ala Lys				
320	325	330	335	
ATT AAA GAA GAA CCA TGG GAC CCA GAA CTT GAC AGT TTA GTG AAG CAA				1236
Ile Lys Glu Glu Pro Trp Asp Pro Glu Leu Asp Ser Leu Val Lys Gln				
	340	345	350	
GAG GAG GTT GAT GTA TTT AGA AAT CAA GTG AAG CAA GAA AAA GGT GAA				1284
Glu Glu Val Asp Val Phe Arg Asn Gln Val Lys Gln Glu Lys Gly Glu				
	355	360	365	
TCT GAA AAT GAA ATA GAA GAT AAT CTG TTG AGA GAA GAT ATG GAA AGA				1332
Ser Glu Asn Glu Ile Glu Asp Asn Leu Leu Arg Glu Asp Met Glu Arg				
	370	375	380	
ACT TGT GTG ATT CCT AGT ATT TCA GAA AAT GAA CTC CAA GAT TTG GAA				1380
Thr Cys Val Ile Pro Ser Ile Ser Glu Asn Glu Leu Gln Asp Leu Glu				
	385	390	395	
CAG CAA GCT AAA GAA GAA AAA TAT AAT GAT GTT TCT CAC CAA CTT TCT				1428
Gln Gln Ala Lys Glu Glu Lys Tyr Asn Asp Val Ser His Gln Leu Ser				
400	405	410	415	
GAG CAT TTA TCT CCC AAT GAT GAT GAG AAT GAC TCC TCC TAT ATA ATT				1476
Glu His Leu Ser Pro Asn Asp Asp Glu Asn Asp Ser Ser Tyr Ile Ile				
	420	425	430	
GAA AGT GAT GAA GAT TTG GAA ATG GAG ATG CTG AAG TCT TTA GAA AAC				1524
Glu Ser Asp Glu Asp Leu Glu Met Glu Met Leu Lys Ser Leu Glu Asn				
	435	440	445	
CTA AAT AGT GAC ATG GTG GAA CCC ACT CAC TCT AAA TGG TTG GAA ATG				1572

Leu	Asn	Ser	Asp	Met	Val	Glu	Pro	Thr	His	Ser	Lys	Trp	Leu	Glu	Met		
450						455						460					
GGA	ACC	AAT	GGG	TGT	CTT	CCT	CCT	GAG	GAG	GAA	GAT	GGA	CAC	GGA	AAT	1620	
Gly	Thr	Asn	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Asp	Gly	His	Gly	Asn		
465						470						475					
GAA	GCC	ATC	AAA	GAG	GAG	CAG	GAA	GAA	GAG	GAC	CAT	TTA	TTG	CCG	GAA	1668	
Glu	Ala	Ile	Lys	Glu	Glu	Gln	Glu	Glu	Glu	Asp	His	Leu	Leu	Pro	Glu		
480						485						490					495
CCC	AAC	GCA	AAG	CAA	ATT	AAT	TGC	CTC	AAG	ACC	TAT	TTC	GGA	CAC	AGC	1716	
Pro	Asn	Ala	Lys	Gln	Ile	Asn	Cys	Leu	Lys	Thr	Tyr	Phe	Gly	His	Ser		
500						505						510					
AGT	TTT	AAA	CCG	GTT	CAG	TGG	AAA	GTC	ATC	CAT	TCT	GTA	TTA	GAA	GAG	1764	
Ser	Phe	Lys	Pro	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Ile	His	Ser	Val	Leu	Glu	Glu		
515						520						525					
AGA	AGA	GAT	AAT	GTT	GTT	GTC	ATG	GCA	ACT	GGA	TAT	GGG	AAG	AGT	CTG	1812	
Arg	Arg	Asp	Asn	Val	Val	Val	Met	Ala	Thr	Gly	Tyr	Gly	Lys	Ser	Leu		
530						535						540					
TGC	TTC	CAG	TAT	CCG	CCT	GTT	TAT	ACA	GGC	AAG	ATT	GGC	ATT	GTC	ATT	1860	
Cys	Phe	Gln	Tyr	Pro	Pro	Val	Tyr	Thr	Gly	Lys	Ile	Gly	Ile	Val	Ile		
545						550						555					
TCA	CCT	CTC	ATT	TCC	TTA	ATG	GAA	GAC	CAA	GTC	CTC	CAG	CTT	GAG	CTA	1908	
Ser	Pro	Leu	Ile	Ser	Leu	Met	Glu	Asp	Gln	Val	Leu	Gln	Leu	Glu	Leu		
560						565						570					575
TCC	AAT	GTT	CCA	GCC	TGT	TTA	CTT	GGA	TCT	GCA	CAA	TCA	AAA	AAT	ATT	1956	
Ser	Asn	Val	Pro	Ala	Cys	Leu	Leu	Gly	Ser	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Ile		
580						585						590					
CTA	GGA	GAT	GTT	AAA	TTA	GGC	AAA	TAT	AGG	GTC	ATC	TAC	ATA	ACT	CCA	2004	
Leu	Gly	Asp	Val	Lys	Leu	Gly	Lys	Tyr	Arg	Val	Ile	Tyr	Ile	Thr	Pro		
595						600						605					
GAG	TTC	TGT	TCT	GGT	AAC	TTG	GAT	CTA	CTC	CAG	AAA	CTT	GAC	TCT	AGT	2052	
Glu	Phe	Cys	Ser	Gly	Asn	Leu	Asp	Leu	Leu	Gln	Lys	Leu	Asp	Ser	Ser		
610						615						620					
ATT	GGC	ATC	ACT	CTC	ATT	GCT	GTG	GAT	GAG	GCT	CAC	TGC	ATT	TCA	GAG	2100	
Ile	Gly	Ile	Thr	Leu	Ile	Ala	Val	Asp	Glu	Ala	His	Cys	Ile	Ser	Glu		
625						630						635					
TGG	GGC	CAT	GAT	TTC	AGA	AGT	TCA	TTC	AGG	ATG	CTG	GGC	TCT	CTT	AAA	2148	
Trp	Gly	His	Asp	Phe	Arg	Ser	Ser	Phe	Arg	Met	Leu	Gly	Ser	Leu	Lys		
640						645						650					655
ACA	GCG	CTC	CCA	TTG	GTT	CCA	GTC	ATT	GCA	CTC	TCC	GCT	ACT	GCA	AGC	2196	
Thr	Ala	Leu	Pro	Leu	Val	Pro	Val	Ile	Ala	Leu	Ser	Ala	Thr	Ala	Ser		
660						665						670					
TCT	TCC	ATC	CGG	GAA	GAC	ATT	ATA	AGC	TGC	TTA	AAC	CTG	AAA	GAC	CCT	2244	
Ser	Ser	Ile	Arg	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Cys	Leu	Asn	Leu	Lys	Asp	Pro		
675						680						685					
CAG	ATC	ACC	TGC	ACT	GGA	TTT	GAT	CGG	CCA	AAT	CTG	TAC	TTA	GAA	GTT	2292	
Gln	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Phe	Asp	Arg	Pro	Asn	Leu	Tyr	Leu	Glu	Val		
690						695						700					
GGA	CGG	AAA	ACA	GGG	AAC	ATC	CTT	CAG	GAT	CTA	AAG	CCG	TTT	CTC	GTC	2340	
Gly	Arg	Lys	Thr	Gly	Asn	Ile	Leu	Gln	Asp	Leu	Lys	Pro	Phe	Leu	Val		
705						710						715					

CGA AAG GCA AGT TCT GCC TGG GAA TTT GAA GGT CCA ACC ATC ATC TAT	2388
Arg Lys Ala Ser Ser Ala Trp Glu Phe Glu Gly Pro Thr Ile Ile Tyr	
720 725 730 735	
TGT CCT TCG AGA AAA ATG ACA GAA CAA GTT ACT GCT GAA CTT GGG AAA	2436
Cys Pro Ser Arg Lys Met Thr Glu Gln Val Thr Ala Glu Leu Gly Lys	
740 745 750	
CTG AAC TTA GCC TGC AGA ACA TAC CAC GCT GGC ATG AAA ATT AGC GAA	2484
Leu Asn Leu Ala Cys Arg Thr Tyr His Ala Gly Met Lys Ile Ser Glu	
755 760 765	
AGG AAG GAC GTT CAT CAT AGG TTC CTG AGA GAT GAA ATT CAG TGT GTT	2532
Arg Lys Asp Val His His Arg Phe Leu Arg Asp Glu Ile Gln Cys Val	
770 775 780	
GTA GCT ACT GTA GCT TTT GGA ATG GGC ATT AAT AAA GCT GAC ATT CGC	2580
Val Ala Thr Val Ala Phe Gly Met Gly Ile Asn Lys Ala Asp Ile Arg	
785 790 795	
CAA GTT ATT CAT TAT GGT GCG CCT AAG GAA ATG GAA TCC TAT TAC CAG	2628
Gln Val Ile His Tyr Gly Ala Pro Lys Glu Met Glu Ser Tyr Tyr Gln	
800 805 810 815	
GAA ATT GGT AGA GCT GGC CGG GAT GGA CTT CAG AGT TCC TGT CAC TTG	2676
Glu Ile Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Leu Gln Ser Ser Cys His Leu	
820 825 830	
CTC TGG GCT CCA GCA GAC TTT AAC ACA TCC AGG AAT CTC CTT ATT GAG	2724
Leu Trp Ala Pro Ala Asp Phe Asn Thr Ser Arg Asn Leu Leu Ile Glu	
835 840 845	
ATT CAC GAT GAA AAG TTC CGG TTA TAT AAA TTA AAG ATG ATG GTA AAG	2772
Ile His Asp Glu Lys Phe Arg Leu Tyr Lys Leu Lys Met Met Val Lys	
850 855 860	
ATG GAA AAA TAC CTT CAC TCC AGT CAG TGT AGG CGA CGA ATC ATC TTG	2820
Met Glu Lys Tyr Leu His Ser Ser Gln Cys Arg Arg Arg Ile Ile Leu	
865 870 875	
TCC CAT TTT GAG GAC AAA TGT CTG CAG AAG GCC TCC TTG GAC ATT ATG	2868
Ser His Phe Glu Asp Lys Cys Leu Gln Lys Ala Ser Leu Asp Ile Met	
880 885 890 895	
GGA ACT GAA AAA TGC TGT GAT AAT TGC AGG CCC AGG CTG AAT CAT TGC	2916
Gly Thr Glu Lys Cys Cys Asp Asn Cys Arg Pro Arg Leu Asn His Cys	
900 905 910	
CTT ACT GCT AAC AAC TCA GAG GAC GCA TCC CAA GAC TTT GGG CCA CAA	2964
Leu Thr Ala Asn Asn Ser Glu Asp Ala Ser Gln Asp Phe Gly Pro Gln	
915 920 925	
GCA TTC CAG CTA CTG TCT GCT GTG GAC ATC CTG CAG GAG AAA TTT GGA	3012
Ala Phe Gln Leu Leu Ser Ala Val Asp Ile Leu Gln Glu Lys Phe Gly	
930 935 940	
ATT GGG ATT CCG ATC TTA TTT CTC CGA GGA TCT AAT TCT CAG CGT CTT	3060
Ile Gly Ile Pro Ile Leu Phe Leu Arg Gly Ser Asn Ser Gln Arg Leu	
945 950 955	
CCT GAT AAA TAT CGG GGT CAC AGG CTC TTT GGT GCT GGA AAG GAG CAA	3108
Pro Asp Lys Tyr Arg Gly His Arg Leu Phe Gly Ala Gly Lys Glu Gln	
960 965 970 975	
GCA GAA AGT TGG TGG AAG ACT CTT TCT CAC CAT CTC ATA GCT GAA GGA	3156
Ala Glu Ser Trp Trp Lys Thr Leu Ser His His Leu Ile Ala Glu Gly	

	980	985	990	
TTC TTG GTA GAG GTT CCC AAG GAA AAC AAA TAT ATA AAG ACA TGT TCC	3204			
Phe Leu Val Glu Val Pro Lys Glu Asn Lys Tyr Ile Lys Thr Cys Ser				
995	1000	1005		
CTC ACA AAA AAG GGT AGA AAG TGG CTT GGA GAA GCC AGT TTG CAG TCT	3252			
Leu Thr Lys Lys Gly Arg Lys Trp Leu Gly Glu Ala Ser Leu Gln Ser				
1010	1015	1020		
CCT CCG AGC CTT CTC CTT CAA GCT AAT GAA GAG ATG TTT CCA AGG AAA	3300			
Pro Pro Ser Leu Leu Leu Gln Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg Lys				
1025	1030	1035		
GTT CTG CTA CCA AGT TCT AAT CCT GTA TCT CCA GAA ACG ACG CAA CAT	3348			
Val Leu Leu Pro Ser Ser Asn Pro Val Ser Pro Glu Thr Thr Gln His				
1040	1045	1050	1055	
TCC TCT AAT CAA AAC CCA GCT GGA TTA ACT ACC AAG CAG TCT AAT TTG	3396			
Ser Ser Asn Gln Asn Pro Ala Gly Leu Thr Thr Lys Gln Ser Asn Leu				
1060	1065	1070		
GAG AGG ACG CAT TCT TAC AAA GTG CCT GAG AAA GTT TCT TCT GGG AGT	3444			
Glu Arg Thr His Ser Tyr Lys Val Pro Glu Lys Val Ser Ser Gly Ser				
1075	1080	1085		
AAC ATT CCT AAA AAA AGT GCC GTG ATG CCG TCA CCA GGA ACA TCT TCC	3492			
Asn Ile Pro Lys Lys Ser Ala Val Met Pro Ser Pro Gly Thr Ser Ser				
1090	1095	1100		
AGC CCC TTA GAA CCT GCC ATC TCA GCC CAA GAG CTG GAC GCT CGG ACT	3540			
Ser Pro Leu Glu Pro Ala Ile Ser Ala Gln Glu Leu Asp Ala Arg Thr				
1105	1110	1115		
GGG CTA TAT GCC AGG TTG GTG GAA GCA AGG CAG AAA CAC GCT AAT AAG	3588			
Gly Leu Tyr Ala Arg Leu Val Glu Ala Arg Gln Lys His Ala Asn Lys				
1120	1125	1130	1135	
ATG GAT GTA CCT CCA GCT ATT TTA GCA GCA AAC AAG GTT TTG CTG GAC	3636			
Met Asp Val Pro Pro Ala Ile Leu Ala Ala Asn Lys Val Leu Leu Asp				
1140	1145	1150		
ATG GCT AAA ATG AGA CCG ACT ACT GTT GAA AAC ATG AAA CAG ATC GAC	3684			
Met Ala Lys Met Arg Pro Thr Thr Val Glu Asn Met Lys Gln Ile Asp				
1155	1160	1165		
GGT GTC TCT GAA GGC AAA GCT GCT CTG TTG GCC CCT CTG GTG GGA GTC	3732			
Gly Val Ser Glu Gly Lys Ala Ala Leu Leu Ala Pro Leu Val Gly Val				
1170	1175	1180		
ATC AAA CAT TTC TGT CAA GTA ACT AGT GTT CAG ACA GAC CTC CTT TCC	3780			
Ile Lys His Phe Cys Gln Val Thr Ser Val Gln Thr Asp Leu Leu Ser				
1185	1190	1195		
AGT GCC AAA CCT CAC AAG GAA CAG GAG AAA AGT CAG GAG ATG GAA AAG	3828			
Ser Ala Lys Pro His Lys Glu Gln Glu Lys Ser Gln Glu Met Glu Lys				
1200	1205	1210	1215	
AAA GAC TGC TCA CTC CCC CAG TCT GTG GCC GTC ACA TAC ACT TTA TTC	3876			
Lys Asp Cys Ser Leu Pro Gln Ser Val Ala Val Thr Tyr Thr Leu Phe				
1220	1225	1230		
CAG GAA AAG AAA ATG CCC TTA CAC AGC ATA GCT GAG AAC AGG CTC CTG	3924			
Gln Glu Lys Lys Met Pro Leu His Ser Ile Ala Glu Asn Arg Leu Leu				
1235	1240	1245		
CCT CTC ACA GCA GTC GGC ATG CAC TTA GCC CAG GCG GTG AAA GCC GGC	3972			

```

Pro Leu Thr Ala Val Gly Met His Leu Ala Gln Ala Val Lys Ala Gly
      1250              1255              1260
TGC CCC CTG GAT ATG GAG CGA GCT GGC CTG ACC CCA GAG ACT TGG AAG 4020
Cys Pro Leu Asp Met Glu Arg Ala Gly Leu Thr Pro Glu Thr Trp Lys
      1265              1270              1275
ATT ATT ATG GAT GTC ATC CGA AAC CCT CCC ATC AAC TCA GAT ATG TAT 4068
Ile Ile Met Asp Val Ile Arg Asn Pro Pro Ile Asn Ser Asp Met Tyr
      1280              1285              1290              1295
AAA GTT AAA CTC ATC AGA ATG TTA GTT CCT GAA AAC ATC GAC ACG TAC 4116
Lys Val Lys Leu Ile Arg Met Leu Val Pro Glu Asn Ile Asp Thr Tyr
              1300              1305              1310
CTC ATC CAC ATG GCG ATT GAG ATT CTT CAG AGT GGT TCC GAC AGC AGA 4164
Leu Ile His Met Ala Ile Glu Ile Leu Gln Ser Gly Ser Asp Ser Arg
              1315              1320              1325
ACC CAG CCT CCT TGT GAT TCC AGC AGG AAG AGG CGT TTC CCC AGC TCT 4212
Thr Gln Pro Pro Cys Asp Ser Ser Arg Lys Arg Arg Phe Pro Ser Ser
              1330              1335              1340
GCA GAG AGT TGT GAG AGC TGT AAG GAG AGC AAA GAG GTG GTC ACC GAG 4260
Ala Glu Ser Cys Glu Ser Cys Lys Glu Ser Lys Glu Val Val Thr Glu
              1345              1350              1355
ACC AAG GCA TCA TCT TCA GAG TCA AAG AGA AAA TTA CCT GAG TGG TTT 4308
Thr Lys Ala Ser Ser Ser Glu Ser Lys Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe
              1360              1365              1370              1375
GCC AAA GGA AAT GTG CCC TCA GCT GAT ACC GGC AGC TCA TCA TCA ATG 4356
Ala Lys Gly Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser Met
              1380              1385              1390
GCC AAG ACC AAA AAG AAA GGT CTC TTT AGT TAA 4389
Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gly Leu Phe Ser
              1395              1400
GATGACAACG ATGGAACAGT TTGTGTGTCC TACATCTTCA TTCCTATAAA GAATGAAAAG 4449
AAATATTTTA ACCTCAAAAT TATTTAAAGT CCAAAGTGAA GCTCACCTAA ACGTCGAGCC 4509
ATAGAGTCTT TAATTGCCCG TTGGCAGTTG AGCTACAGTA TCTGAACCTT CTGAGACCCG 4569
GAGTGCAGCA TAGACTGTGA AGTCGGCTTC CTTTCCGATT GCCTTCCGAA CCGGTGCCAC 4629
TGTGAGTTG CAGTTTCTCT TTTTTCGAG CAGTGTGTGT TGGAATGGA GGCTGTGTCG 4689
CTTTGACATA TAGAACAGAT CAATAGTTGC ATAGGACAG ATATGAAGAT ACAGCCGGTC 4749
TTTGCTTTCT TATGCAGATG CCTGTATGAC AGTATCAGTG CACCAGCCCA GCCAGGGAGA 4809
ATCAGCTTCC ATTTAAAAAG GGAAAGCGGA CAAGGACTCC AGTTACAGAA ACAACTAAAT 4869
TTTATGCATT TTCTGCAGTT TTTATTATT CTCAATCAAA AGTGTTTTTT GACTGAATA 4929
GTAAATATAC TAAATTTTCA TTTTAAAT TGTTGTGAGT GCCTTCAATA TTTGAAGATG 4989
CCAATTTTAT ATGTTTTTAT GTTTCACAAA GAATTAATAA ACTGAAAAA AAAAAAAAAA 5049
AAAAAAAAA 5058

```

【0137】配列番号：2

配列の長さ：1401

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列：

```

Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser
  1              5              10              15
Met Gln Ser Gln Arg Cys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Cys Val Gln Lys

```

起源

生物名：マウス

配列の特徴

他の情報：mouse WRN helicase

20										25					30				
Ser	Val	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Pro	Phe	Leu	Glu	Phe	Pro	Gly	Ser	Ile				
35										40					45				
Val	Tyr	Ser	Tyr	Glu	Ala	Ser	Asp	Cys	Ser	Phe	Leu	Ser	Glu	Asp	Ile				
50										55					60				
Ser	Met	Arg	Leu	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Val	Gly	Phe	Asp	Met	Glu	Trp				
65										70					75				
Pro	Pro	Ile	Tyr	Lys	Pro	Gly	Lys	Arg	Ser	Arg	Val	Ala	Val	Ile	Gln				
80										85					90				
Leu	Cys	Val	Ser	Glu	Asn	Lys	Cys	Tyr	Leu	Phe	His	Ile	Ser	Ser	Met				
100										105					110				
Ser	Val	Phe	Pro	Gln	Gly	Leu	Lys	Met	Leu	Leu	Glu	Asn	Lys	Ser	Ile				
115										120					125				
Lys	Lys	Ala	Gly	Val	Gly	Ile	Glu	Gly	Asp	Gln	Trp	Lys	Leu	Leu	Arg				
130										135					140				
Asp	Phe	Asp	Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Leu	Thr	Asp	Val	Ala				
145										150					155				
Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Cys	Ala	Glu	Thr	Trp	Ser	Leu	Asn	Gly	Leu	Val				
160										165					170				
Lys	His	Val	Leu	Gly	Lys	Gln	Leu	Leu	Lys	Asp	Lys	Ser	Ile	Arg	Cys				
180										185					190				
Ser	Asn	Trp	Ser	Asn	Phe	Pro	Leu	Thr	Glu	Asp	Gln	Lys	Leu	Tyr	Ala				
195										200					205				
Ala	Thr	Asp	Ala	Tyr	Ala	Gly	Leu	Ile	Ile	Tyr	Gln	Lys	Leu	Gly	Asn				
210										215					220				
Leu	Gly	Asp	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Ala	Leu	Asn	Lys	Ala	Glu	Glu	Asn				
225										230					235				
Leu	Pro	Leu	Glu	Met	Lys	Lys	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Met				
240										245					250				
Arg	Asp	Leu	Ala	Asn	Arg	Phe	Pro	Val	Thr	Cys	Arg	Asn	Leu	Glu	Thr				
260										265					270				
Leu	Gln	Arg	Val	Pro	Val	Ile	Leu	Lys	Ser	Ile	Ser	Glu	Asn	Leu	Cys				
275										280					285				
Ser	Leu	Arg	Lys	Val	Ile	Cys	Gly	Pro	Thr	Asn	Thr	Glu	Thr	Arg	Leu				
290										295					300				
Lys	Pro	Gly	Ser	Ser	Phe	Asn	Leu	Leu	Ser	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Ala				
305										310					315				
Ala	Gly	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Thr	Phe	Ala	Lys				
320										325					330				
Ile	Lys	Glu	Glu	Pro	Trp	Asp	Pro	Glu	Leu	Asp	Ser	Leu	Val	Lys	Gln				
340										345					350				
Glu	Glu	Val	Asp	Val	Phe	Arg	Asn	Gln	Val	Lys	Gln	Glu	Lys	Gly	Glu				
355										360					365				
Ser	Glu	Asn	Glu	Ile	Glu	Asp	Asn	Leu	Leu	Arg	Glu	Asp	Met	Glu	Arg				
370										375					380				
Thr	Cys	Val	Ile	Pro	Ser	Ile	Ser	Glu	Asn	Glu	Leu	Gln	Asp	Leu	Glu				
385										390					395				
Gln	Gln	Ala	Lys	Glu	Glu	Lys	Tyr	Asn	Asp	Val	Ser	His	Gln	Leu	Ser				
400										405					410				
Glu	His	Leu	Ser	Pro	Asn	Asp	Asp	Glu	Asn	Asp	Ser	Ser	Tyr	Ile	Ile				

420 425 430
 Glu Ser Asp Glu Asp Leu Glu Met Glu Met Leu Lys Ser Leu Glu Asn
 435 440 445
 Leu Asn Ser Asp Met Val Glu Pro Thr His Ser Lys Trp Leu Glu Met
 450 455 460
 Gly Thr Asn Gly Cys Leu Pro Pro Glu Glu Glu Asp Gly His Gly Asn
 465 470 475
 Glu Ala Ile Lys Glu Glu Gln Glu Glu Asp His Leu Leu Pro Glu
 480 485 490 495
 Pro Asn Ala Lys Gln Ile Asn Cys Leu Lys Thr Tyr Phe Gly His Ser
 500 505 510
 Ser Phe Lys Pro Val Gln Trp Lys Val Ile His Ser Val Leu Glu Glu
 515 520 525
 Arg Arg Asp Asn Val Val Val Met Ala Thr Gly Tyr Gly Lys Ser Leu
 530 535 540
 Cys Phe Gln Tyr Pro Pro Val Tyr Thr Gly Lys Ile Gly Ile Val Ile
 545 550 555
 Ser Pro Leu Ile Ser Leu Met Glu Asp Gln Val Leu Gln Leu Glu Leu
 560 565 570 575
 Ser Asn Val Pro Ala Cys Leu Leu Gly Ser Ala Gln Ser Lys Asn Ile
 580 585 590
 Leu Gly Asp Val Lys Leu Gly Lys Tyr Arg Val Ile Tyr Ile Thr Pro
 595 600 605
 Glu Phe Cys Ser Gly Asn Leu Asp Leu Leu Gln Lys Leu Asp Ser Ser
 610 615 620
 Ile Gly Ile Thr Leu Ile Ala Val Asp Glu Ala His Cys Ile Ser Glu
 625 630 635
 Trp Gly His Asp Phe Arg Ser Ser Phe Arg Met Leu Gly Ser Leu Lys
 640 645 650 655
 Thr Ala Leu Pro Leu Val Pro Val Ile Ala Leu Ser Ala Thr Ala Ser
 660 665 670
 Ser Ser Ile Arg Glu Asp Ile Ile Ser Cys Leu Asn Leu Lys Asp Pro
 675 680 685
 Gln Ile Thr Cys Thr Gly Phe Asp Arg Pro Asn Leu Tyr Leu Glu Val
 690 695 700
 Gly Arg Lys Thr Gly Asn Ile Leu Gln Asp Leu Lys Pro Phe Leu Val
 705 710 715
 Arg Lys Ala Ser Ser Ala Trp Glu Phe Glu Gly Pro Thr Ile Ile Tyr
 720 725 730 735
 Cys Pro Ser Arg Lys Met Thr Glu Gln Val Thr Ala Glu Leu Gly Lys
 740 745 750
 Leu Asn Leu Ala Cys Arg Thr Tyr His Ala Gly Met Lys Ile Ser Glu
 755 760 765
 Arg Lys Asp Val His His Arg Phe Leu Arg Asp Glu Ile Gln Cys Val
 770 775 780
 Val Ala Thr Val Ala Phe Gly Met Gly Ile Asn Lys Ala Asp Ile Arg
 785 790 795
 Gln Val Ile His Tyr Gly Ala Pro Lys Glu Met Glu Ser Tyr Tyr Gln
 800 805 810 815
 Glu Ile Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Leu Gln Ser Ser Cys His Leu

	820		825		830
Leu Trp Ala Pro Ala Asp Phe Asn Thr Ser Arg Asn Leu Leu Ile Glu					
	835		840		845
Ile His Asp Glu Lys Phe Arg Leu Tyr Lys Leu Lys Met Met Val Lys					
	850		855		860
Met Glu Lys Tyr Leu His Ser Ser Gln Cys Arg Arg Arg Ile Ile Leu					
	865		870		875
Ser His Phe Glu Asp Lys Cys Leu Gln Lys Ala Ser Leu Asp Ile Met					
880		885		890	895
Gly Thr Glu Lys Cys Cys Asp Asn Cys Arg Pro Arg Leu Asn His Cys					
	900		905		910
Leu Thr Ala Asn Asn Ser Glu Asp Ala Ser Gln Asp Phe Gly Pro Gln					
	915		920		925
Ala Phe Gln Leu Leu Ser Ala Val Asp Ile Leu Gln Glu Lys Phe Gly					
	930		935		940
Ile Gly Ile Pro Ile Leu Phe Leu Arg Gly Ser Asn Ser Gln Arg Leu					
	945		950		955
Pro Asp Lys Tyr Arg Gly His Arg Leu Phe Gly Ala Gly Lys Glu Gln					
960		965		970	975
Ala Glu Ser Trp Trp Lys Thr Leu Ser His His Leu Ile Ala Glu Gly					
	980		985		990
Phe Leu Val Glu Val Pro Lys Glu Asn Lys Tyr Ile Lys Thr Cys Ser					
	995		1000		1005
Leu Thr Lys Lys Gly Arg Lys Trp Leu Gly Glu Ala Ser Leu Gln Ser					
	1010		1015		1020
Pro Pro Ser Leu Leu Leu Gln Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg Lys					
	1025		1030		1035
Val Leu Leu Pro Ser Ser Asn Pro Val Ser Pro Glu Thr Thr Gln His					
1040		1045		1050	1055
Ser Ser Asn Gln Asn Pro Ala Gly Leu Thr Thr Lys Gln Ser Asn Leu					
	1060		1065		1070
Glu Arg Thr His Ser Tyr Lys Val Pro Glu Lys Val Ser Ser Gly Ser					
	1075		1080		1085
Asn Ile Pro Lys Lys Ser Ala Val Met Pro Ser Pro Gly Thr Ser Ser					
	1090		1095		1100
Ser Pro Leu Glu Pro Ala Ile Ser Ala Gln Glu Leu Asp Ala Arg Thr					
	1105		1110		1115
Gly Leu Tyr Ala Arg Leu Val Glu Ala Arg Gln Lys His Ala Asn Lys					
1120		1125		1130	1135
Met Asp Val Pro Pro Ala Ile Leu Ala Ala Asn Lys Val Leu Leu Asp					
	1140		1145		1150
Met Ala Lys Met Arg Pro Thr Thr Val Glu Asn Met Lys Gln Ile Asp					
	1155		1160		1165
Gly Val Ser Glu Gly Lys Ala Ala Leu Leu Ala Pro Leu Val Gly Val					
	1170		1175		1180
Ile Lys His Phe Cys Gln Val Thr Ser Val Gln Thr Asp Leu Leu Ser					
	1185		1190		1195
Ser Ala Lys Pro His Lys Glu Gln Glu Lys Ser Gln Glu Met Glu Lys					
1200		1205		1210	1215
Lys Asp Cys Ser Leu Pro Gln Ser Val Ala Val Thr Tyr Thr Leu Phe					

```

          1220          1225          1230
Gln Glu Lys Lys Met Pro Leu His Ser Ile Ala Glu Asn Arg Leu Leu
          1235          1240          1245
Pro Leu Thr Ala Val Gly Met His Leu Ala Gln Ala Val Lys Ala Gly
          1250          1255          1260
Cys Pro Leu Asp Met Glu Arg Ala Gly Leu Thr Pro Glu Thr Trp Lys
          1265          1270          1275
Ile Ile Met Asp Val Ile Arg Asn Pro Pro Ile Asn Ser Asp Met Tyr
          1280          1285          1290          1295
Lys Val Lys Leu Ile Arg Met Leu Val Pro Glu Asn Ile Asp Thr Tyr
          1300          1305          1310
Leu Ile His Met Ala Ile Glu Ile Leu Gln Ser Gly Ser Asp Ser Arg
          1315          1320          1325
Thr Gln Pro Pro Cys Asp Ser Ser Arg Lys Arg Arg Phe Pro Ser Ser
          1330          1335          1340
Ala Glu Ser Cys Glu Ser Cys Lys Glu Ser Lys Glu Val Val Thr Glu
          1345          1350          1355
Thr Lys Ala Ser Ser Ser Glu Ser Lys Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe
          1360          1365          1370          1375
Ala Lys Gly Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Met
          1380          1385          1390
Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gly Leu Phe Ser
          1395          1400

```

【 0 1 3 8 】 配列番号 : 3

配列の長さ : 4 2 0 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : マウス

配列の特徴

他の情報 : mouse WRN helicase

配列 :

```

ATGGAAACCA CTCACTACA GCGGAAATTT CCAGAAATGGA TGTCTATGCA GAGTCAAAGA 60
TGTGCTACAG AAGAAAAGGC CTGCGTTCAG AAGAGTGTTT TTGAAGATAA TCTCCCATTC 120
TTAGAATTC CTGGATCCAT TGTTTACAGT TATGAAGCTA GTGATTGCTC CTCCTGTCT 180
GAAGACATTA GCATGCGTCT GTCTGATGGC GATGTGGTGG GATTGACAT GGAATGGCCG 240
CCCATATACA AGCCAGGGAA ACGAAGCAGA GTCGCAGTGA TCCAGTTGTG TGTGCTGAG 300
AACAAATGTT ACTTGTTC CAATTCCTCC ATGTCAGTTT TCCCCAGGG ATTAATAATG 360
TTACTAGAAA ACAATCAAT TAAGAAGGCA GGGGTTGGGA TTGAAGGGGA CCAGTGGA 420
CTTCTGCGTG ATTTTGACGT CAAGTTGGAG AGTTTGTGG AGCTGACGGA TGTGCCAAT 480
GAAAAGTTGA AGTGCGCAGA GACCTGGAGC CTCAATGGTC TGGTTAAACA CGTCTAGGG 540
AAACAACCTT TGAAGACAA GTCCATCCG CAGCAATT GGAGTAATTT CCCCTCACT 600
GAGGACCAGA AACTGTATGC AGCCACTGAT GCCTATGCTG GTCTTATCAT CTATCAAAAA 660
TTAGGAAATT TGGTGATAC TGTGCAAGTG TTTGCTCTAA ATAAAGCAGA GGAAACCTA 720
CCTCTGGAGA TGAAGAAACA GTTGAATTTA ATCTCCGAG AAATGAGGGA TCTAGCCAAT 780
CGTTTCCAG TCACTGCGAG AAATTTGGAA ACTCTCCAGA GGGTTCCTGT AATATTGAAG 840
AGTATTCAG AAAATCTCTG TTCATTGAGA AAAGTGATCT GTGGTCTTAC AACACTGAG 900
ACTAGACTGA AGCCGGGCAG TAGTTTAAAT TTAAGTGCAT CAGAAGATTC AGCTGCTGCT 960
GGAGAAAAAG AGAAACAGAT TGGAAACAT AGTACTTTTG CTAATAATTA AGAAGAACCA 1020
TGGGACCCAG AACTTGACAG TTTAGTGAAG CAAGAGGAGG TTGATGTATT TAGAAATCAA 1080
GTGAAGCAAG AAAAGGTGA ATCTGAAAT GAAATAGAAG ATAATCTGTT GAGAGAAGAT 1140
ATGGAAAGAA CTTGTGTGAT TCCTAGTATT TCAGAAATG AACTCCAAGA TTTGGAACAG 1200
CAAGCTAAAG AAGAAAAATA TAATGATGTT TCTACCAAC TTTCTGAGCA TTTATCTCCC 1260

```

AATGATGATG AGAATGACTC CTCCTATATA ATTGAAAGTG ATGAAGATTT GGAAATGGAG 1320
 ATGCTGAAGT CTTTAGAAAA CCTAAATAGT GACATGGTGG AACCCACTCA CTCTAAATGG 1380
 TTGGAAATGG GAACCAATGG GTGTCTTCCT CCTGAGGAGG AAGATGGACA CGGAAATGAA 1440
 GCCATCAAAG AGGAGCAGGA AGAAGAGGAC CATTATTGTC CGGAACCCAA CGCAAAGCAA 1500
 ATTAATTGCC TCAAGACCTA TTTCCGACAC AGCAGTTTTA AACCGGTTCA GTGGAAAGTC 1560
 ATCCATTCTG TATTAGAAGA GAGAAGAGAT AATGTTGTTG TCATGGCAAC TGGATATGGG 1620
 AAGAGTCTGT GCTTCCAGTA TCCGCCTGTT TATACAGGCA AGATTGGCAT TGTCAATTC 1680
 CCTCTCATTT CCTTAATGGA AGACCAAGTC CTCCAGCTTG AGCTATCCAA TGTTCAGGCC 1740
 TGTTTACTTG GATCTGCACA ATCAAAAAAT ATTCTAGGAG ATGTTAAAT AGGCAAATAT 1800
 AGGGTCACTCT ACATAACTCC AGAGTTCTGT TCTGGTAACT TGGATCTACT CCAGAACTT 1860
 GACTCTAGTA TTGGCATCAC TCTCATGTCT GTGGATGAGG CTCCTGTCAT TTCAGAGTGG 1920
 GGCCATGATT TCAGAAGTTC ATTCAGGATG CTGGGCTCTC TTAACAGC GCTCCCATTG 1980
 GTTCCAGTCA TTGCACTCTC CGCTACTGCA AGCTCTTCCA TCCGGGAAGA CATTATAAGC 2040
 TGCTTAAACC TGAAGACCC TCAGATCACC TGCCTGGAT TTGATCGGCC AAATCTGTAC 2100
 TTAGAAGTTG GACGGAAAC AGGGAACATC CTTGAGATC TAAAGCCGTT TCTCGTCCGA 2160
 AAGGCAAGTT CTGCCTGGGA ATTTGAAGT CCAACCATCA TCTATTGTCC TTCGAGAAAA 2220
 ATGACAGAAC AAGTTACTGC TGAAGTTGGG AAAGTGAAGT TAGCCTGCAG AACATACCAC 2280
 GCTGGCATGA AAATTAGCGA AAGGAAGGAC GTTCATCATA GGTTCTGAG AGATGAAAT 2340
 CAGTGTGTG TAGCTACTGT AGCTTTTGA ATGGGCATTA ATAAAGTGA CATTGCGCAA 2400
 GTTATTCATT ATGGTGCGCC TAAGGAAATG GAATCCTATT ACCAGGAAAT TGGTAGAGCT 2460
 GGCCGGGATG GACTTCAGAG TTCTGTCTAC TTGCTCTGG CTCCAGCAGA CTTAACACA 2520
 TCCAGGAATC TCCTTATTGA GATTACGAT GAAAAGTTCC GGTATATAA ATTAAGATG 2580
 ATGGTAAAGA TGGAAAAATA CCTTCACTCC AGTCAGTGTA GGCAGCAAT CATCTGTCC 2640
 CATTTTGAGG ACAAATGTCT GCAGAAGGCC TCCTTGGACA TTATGGGAAC TGAAGAAATG 2700
 TGTGATAATT GCAGGCCAG GCTGAATCAT TGCCTACTG CTAACAATC AGAGGAACGA 2760
 TCCCAAGACT TTGGGCCACA AGCATTCCAG CTAAGTCTG CTGTGGACAT CTGACAGGAG 2820
 AAATTTGGAA TTGGGATTCC GATCTTATT CTCCGAGGAT CTAATCTCA GCGTCTTCT 2880
 GATAAATATC GGGGTCACAG GCTCTTTGGT GCTGGAAAGG AGCAAGCAGA AAGTTGGTGG 2940
 AAGACTCTT CTCACCATCT CATAGCTGAA GGATTCTGG TAGAGGTTCC CAAGGAAAC 3000
 AAATATATAA AGACATGTT CCTCACAAA AAGGGTAGAA AGTGGCTTG AGAAGCCAGT 3060
 TTGCAGTCTC CTCGAGCCT TCTCTTCAA GCTAATGAAG AGATGTTCC AAGGAAAGTT 3120
 CTGCTACCAA GTTCTAATCC TGTATCTCA GAAACGACG AACATTCCTC TAATCAAAAC 3180
 CCAGCTGGAT TAACTACCAA GCAGTCTAAT TTGGAGAGGA CGCATTCTTA CAAAGTGCCT 3240
 GAGAAAGTTT CTTCTGGGAG TAACATTCCT AAAAAAGTG CCGTGATGCC GTCACCAGGA 3300
 ACATCTTCCA GCCCCTTAGA ACCTGCCATC TCAGCCCAAG AGCTGGACGC TCGACTGGG 3360
 CTATATGCCA GGTGGGTGGA AGCAAGGCAG AAACACGCTA ATAAGATGGA TGTACCTCCA 3420
 GCTATTTAG CAGCAACAA GGTTTTGCTG GACATGGCTA AAATGAGACC GACTACTGTT 3480
 GAAAACATGA AACAGATCGA CGGTGTCTCT GAAGGCAAAG CTGCTCTGTT GGCCCTCTG 3540
 GTGGAGTCA TCAACATTT CTGTCAAGTA ACTAGTTTC AGACAGACCT CTTTCCAGT 3600
 GCCAAACCTC ACAAGGAACA GGAGAAAAGT CAGGAGATGG AAAAGAAAGA CTGCTCACTC 3660
 CCCAGTCTG TGGCCGTAC ATACACTTTA TTCCAGGAAA AGAAATGCC CTTACACAGC 3720
 ATAGCTGAGA ACAGGCTCCT GCCTCTCACA GCAGTCGGCA TGCATTAGC CCAGGCGGTG 3780
 AAAGCCCGCT GCCCCTGGA TATGGAGCGA GCTGGCCTGA CCCAGAGAC TTGGAAGATT 3840
 ATTATGGATG TCATCCGAAA CCTCCCATC AACTCAGATA TGTATAAAGT TAACTCATC 3900
 AGAATGTTAG TTCCTGAAAA CATCGACAG TACCTCATCC ACATGGCGAT TGAGATTCTT 3960
 CAGAGTGGTT CCGACAGCAG AACCCAGCCT CCTGTGATT CCAGCAGGAA GAGGCGTTTC 4020
 CCCAGCTCTG CAGAGAGTTG TGAGAGCTGT AAGGAGAGCA AAGAGGTGGT CACCGAGACC 4080
 AAGGCATCAT CTTCAGAGTC AAAGAGAAAA TTACCTGAGT GGTTTGCCAA AGGAAATGTG 4140
 CCTCAGCTG ATACCGGCAG CTCATCATCA ATGGCCAAGA CCAAAAAGAA AGGTCTCTTT 4200
 AGTTAA 4206

【0139】配列番号：4

配列の長さ：24

配列の型：核酸

配列：

CGCCAGGGTT TTCCAGTCA CGAC

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

24

【0140】配列番号：5

配列の長さ：22

配列の型：核酸

配列：

TCACACAGGA AACAGCTATG AC

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

22

【0141】配列番号：6

配列の長さ：19

配列の型：核酸

配列：

GATTTAGGTG AACTATAG

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

19

【0142】配列番号：7

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列：

TAATACGACT CACTATAGGG

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

20

【0143】配列番号：8

配列の長さ：22

配列の型：核酸

配列：

ACCGCTTGGG ATAAGTGCAT GC

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

22

【0144】配列番号：9

配列の長さ：24

配列の型：核酸

配列：

GCATTAATAA AGCTGACATT CGCC

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

24

【0145】配列番号：10

配列の長さ：27

配列の型：核酸

配列：

GCTGGAATGC TTGTGGCCCA AAGCTT

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

27

【0146】配列番号：11

配列の長さ：28

配列の型：核酸

配列：

TGAAGTCCAT TCCCGCCAG CTCTACCG

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

28

【0147】配列番号：12

配列の長さ：30

配列の型：核酸

配列：

TCTCCAGCAG CAGCTGATCT TCTGATGACA

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

30

【0148】配列番号：13

配列の長さ：27

配列の型：核酸

配列：

TGGACGCTCG GACTGGGCTA TATGCCA

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

27

【0149】配列番号: 14

配列の長さ: 26

配列の型: 核酸

配列:

AGCTGCTCTG TTGCCCCC TGCTGG

26

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成DNA)

【0150】配列番号: 15

配列の長さ: 27

配列の型: 核酸

配列:

CCATCCTAAT ACGACTCACT ATAGGGC

27

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成DNA)

【0151】配列番号: 16

配列の長さ: 23

配列の型: 核酸

配列:

ACTCACTATA GGGCTCGAGC GGC

23

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他の核酸 (合成DNA)

【0152】配列番号: 17

配列の長さ: 1404

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列:

GCATTAATAA AGCTGACATT CGCCAAGTTA TTCATTATGG TCGCCTAAG GAAATGGAAT 60
 CCTATTACCA GGAAATTGGT AGAGCTGGCC GGGATGGACT TCAGAGTTCC TGTCACCTGC 120
 TCTGGGCTCC AGCAGACTTT AACACATCCA GGAATCTCCT TATTGAGATT CACGATGAAA 180
 AGTTCGGTT ATATAAATTA AAGATGATGG TAAAGATGGA AAAATACCTT CACTCCAGTC 240
 AGTGTAGCG ACGAATCATC TTGTCCCATT TTGAGGACAA ATGTCTGCAG AAGGCCTCCT 300
 TGGACATTAT GGGAACTGAA AAATGCTGTG ATAATTGCAG GCCCAGGCTG AATCATTGCC 360
 TTAATGCTAA CAACTCAGAG GACGATCCC AAGACTTTGG GCCACAAGCA TTCCAGCTAC 420
 TGTCTGCTGT GGACATCTG CAGGAGAAAT TTGGAATTGG GATTCGATC TTATTCTCC 480
 GAGGATCTAA TTCTCAGCGT CTTCTGATA AATATCGGG TCACAGGCTC TTTGGTGCTG 540
 GAAAGGAGCA AGCAGAAAGT TGGTGAAGA CTCTTTCTCA CCATCTCATA GCTGAAGGAT 600
 TCTTGGTAGA GGTTCCTAAG GAAACAAAT ATATAAGAC ATGTTCCCTC AAAAAAAGG 660
 GTAGAAAGTG GCTTGGAGAA GCCAGTTGC AGTCTCCTCC GAGCCTTCTC CTCAAGCTA 720
 ATGAAGAGAT GTTCCAAGG AAAGTTCTGC TACCAAGTTC TAATCCTGTA TCTCCAGAAA 780
 CGACGCAACA TTCCTCTAAT CAAAACCCAG CTGGATTAAC TACCAAGCAG TCTAATTTGG 840
 AGAGGACGCA TTCTTACAAA GTGCCTGAGA AAGTTTCTTC TGGGAGTAAC ATTCCTAAAA 900
 AAAGTGCCGT GATGCCGTCA CCAGGAACAT CTCCAGCCC CTTAGAACCT GCCATCTCAG 960
 CCCAAGAGCT GGACGCTCG ACTGGGCTAT ATGCCAGGTT GGTGAAGCA AGGCAGAAAC 1020
 ACGCTAATAA GATGGATGTA CCTCCAGCTA TTTAGCAGC AAACAAGGTT TTGCTGGACA 1080
 TGGCTAAAT GAGACCGACT ACTGTTGAAA ACATGAAACA GATCGACGGT GTCTCTGAAG 1140
 GCAAAGCTGC TCTGTTGGCC CCTCTGGTGG GAGTCATCAA ACATTTCTGT CAAGTAACTA 1200
 GTGTTCAAGC AGACCTCCTT TCCAGTGCCA AACCTCACAA GGAACAGGAG AAAAGTCAGG 1260
 AGATGGAAGA GAAAGACTGC TCACTCCCCC AGTCTGTGGC CGTCACATAC ACTTTATTCC 1320
 AGGAAAAGAA AATGCCCTTA CACAGCATAG CTGAGAACAG GCTCCTGCCT CTCACAGCAG 1380
 TCGGCATGCA CTTATCCCAA GCGG 1404

配列の種類: cDNA to mRNA

起源

生物名: マウス

配列の特徴

他の情報: mouse WRN helicase

【0153】配列番号: 18

配列の長さ: 1781

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: cDNA to mRNA

起源

生物名: マウス

配列の特徴

他の情報: mouse WRN helicase

配列:

```

TCTAAATAAA GCAGAGGAAA ACCTACCTCT GGAGATGAAG AACAGTTGA ATTTAATCTC 60
CGAAGAAATG AGGGATCTAG CCAATCGTTT TCCAGTCACT TGCAGAAATT TGGAAACTCT 120
CCAGAGGGTT CCTGTAATAT TGAAGAGTAT TTCAGAAAAA CTCTGTTTAT TGAGAAAAGT 180
GATCTGTGGT CCTACAAACA CTGAGACTAG ACTGAAGCCG GGCAGTAGTT TTAATTTACT 240
GTCATCAGAA GATTTCAGCTG CTGCTGGAGA AAAAGAGAAA CAGATTGGAA AACATAGTAC 300
TTTTGCTAAA ATTAAGAAG AACCATGGGA CCCAGAACTT GACAGTTTAT TGAAGCAAGA 360
GGAGGTTGAT GTATTTAGAA ATCAAGTGAA GCAAGAAAAA GGTGAATCTG AAAATGAAAT 420
AGAAGATAAT CTGTTGAGAG AAGATATGGA AAGAACTTGT GTGATTCCTA GTATTTTACA 480
AAATGAATC CAAGATTGG AACAGCAAGC TAAAGAAGAA AAATATAATG ATGTTTCTCA 540
CCAACTTTCT GAGCATTAT CTCCAATGA TGATGAGAAT GACTCCTCCT ATATAATTGA 600
AAGTGATGAA GATTTGAAA TGGAGATGCT GAAGTCTTTA GAAAACCTAA ATAGTGACAT 660
GGTGGAACCC ACTCACTCTA AATGGTTGGA AATGGGAACC AATGGGTGTC TTCCTCCTGA 720
GGAGGAAGAT GGACACGGAA ATGAAGCCAT CAAAGAGGAG CAGGAAGAAG AGGACCATT 780
ATTGCCGGAA CCCAACGCAA AGCAAATTAA TTGCCTCAAG ACCTATTTTCG GACACAGCAG 840
TTTTAAACCG GTTCAGTGA AAGTCATCCA TTCTGTATTA GAAGAGAGAA GAGATAATGT 900
TGTTGTCATG GCAACTGGAT ATGGGAAGAG TCTGTGCTTC CAGTATCCGC CTGTTTATAC 960
AGGCAAGATT GGCATTGTCA TTTCACCTCT CATTTCTTCA ATGGAAGACC AAGTCTCTCA 1020
GCTTGAGCTA TCCAATGTTC CAGCCTGTTT ACTTGGATCT GCACAATCAA AAAATATTCT 1080
AGGAGATGTT AAATTAGGCA AATATAGGGT CATCTACATA ACTCCAGAGT TCTGTTCTGG 1140
TAACTTGGAT CTAATCCAGA AACTTGACTC TAGTATTGGC ATCACTCTCA TTGCTGTGGA 1200
TGAGGCTCAC TGCATTTTCA AGTGGGGCCA TGATTTCAGA AGTTCATTCA GGATGCTGGG 1260
CTCTCTTAAA ACAGCGCTCC CATTGGTTCC AGTCATTGCA CTCTCCGCTA CTGCAAGCTC 1320
TTCCATCCGG GAAGACATTA TAAGCTGCTT AAACCTGAAA GACCCTCAGA TCACCTGCAC 1380
TGGATTTGAT CGGCCAAATC TGTACTTAGA AGTTGGACGG AAAACAGGGA ACATCCTTCA 1440
GGATCTAAG CCGTTTCTCG TCCGAAAGGC AAGTTCTGCC TGGGAATTTG AAGGTCCAAC 1500
CATCATCTAT TGTCTTTCGA GAAAAATGAC AGAACAAGTT ACTGCTGAAC TTGGGAAACT 1560
GAACTTAGCC TGCAGAACAT ACCACGCTGG CATGAAAATT AGCGAAAGGA AGGACGTTCA 1620
TCATAGGTTCTGAGAGATG AAATTCAGTG TGTGTAGCT ACTGTAGCTT TTGGAATGGG 1680
CATTAAATAA GCTGACATTC GCCAAGTTAT TCATTATGGT GCGCCTAAGG AAATGGAATC 1740
CTATTACCAG GAAATTGGTA GAGCTGGCCG GGATGGACTT C 1781

```

【0154】配列番号: 19

配列の長さ: 1164

配列の型: 核酸

鎖の数: 二本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: cDNA to mRNA

起源

生物名: マウス

配列の特徴

他の情報: mouse WRN helicase

配列:

```

GGCAGGCGCC AGACCAGAAG TGCACCGAGG CGCCCGTTGG TATAAAGTTA GTAAATGTGA 60
GGCCTGTCTC GATGCCTGGG TCCTGGGCTT TGGTTCTCAG TCCTCCATAA ATCATCCTGC 120
TGGAGGAGAA GACCCCTAGA TCTGGCTCTT CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC AAATGAAAT 180
AAAATGGAAA CCACTTCACT ACAGCGGAAA TTCCAGAAT GGATGTCTAT GCAGAGTCAA 240
AGATGTGCTA CAGAAGAAAA GGCCTGCGTT CAGAAGAGTG TTCTTGAAGA TAATCTCCCA 300
TTCTTAGAAT TCCCTGGATC CATTGTTTAC AGTTATGAAG CTAGTGATTG CTCCTTCCTG 360
TCTGAAGACA TTAGCATGCG TCTGTCTGAT GCGGATGTGG TGGGATTGA CATGGAATGG 420
CCGCCCATAT ACAAGCCAGG GAAACGAAGC AGAGTCGAG TGATCCAGTT GTGTGTGTCT 480
GAGAACAAAT GTACTTGTT TCACATTCT TCCATGTCAG TTTTCCCCCA GGGATTAAAA 540
ATGTTACTAG AAAACAAATC AATTAAGAAG GCAGGGGTG GGATTGAAGG GGACCAGTGG 600
AACTTCTGCG GTGATTTTGA CGTCAAGTTG GAGAGTTTGG TGGAGCTGAC GGATGTTGCC 660
AATGAAAAGT TGAAGTGCAG AGAGACCTGG AGCCTCAATG GTCTGGTTAA ACACGTCTTA 720
GGGAAACAAC TTTTGAAGA CAAGTCCATC CGCTGCAGCA ATTGAGGTAA TTTCCCCTC 780

```

ACTGAGGACC AGAACTGTA TGCAGCCACT GATGCCTATG CTGGTCTTAT CATCTATCAA 840
 AAATTAGGAA ATTTGGGTGA TACTGTGCAA GTGTTTGCTC TAAATAAGC AGAGGAAAAC 900
 CTACCTCTGG AGATGAAGAA ACAGTTGAAT TTAATCTCCG AAGAAATGAG GGATCTAGCC 960
 AATCGTTTTC CAGTCACTTG CAGAAATTTG GAAACTCTCC AGAGGGTTCC TGTAAATATTG 1020
 AAGAGTATTT CAGAAAATCT CTGTTTCATTG AGAAAAGTGA TCTGTGGTCC TACAAACACT 1080
 GAGACTAGAC TGAAGCCGGG CAGTAGTTTT AATTTACTGT CATCAGAAGA TTCAGCTGCT 1140
 GCTGGAGAAA AAGAGAAACA GATT 1164

【0155】配列番号：20

配列の長さ：1276

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

他の情報：mouse WRN helicase

配列：

GCTGCTCTGT TGGCCCTCT GGTGGGAGTC ATCAACATT TCTGTCAAGT AACTAGTGTT 60
 CAGACAGACC TCCTTCCAG TGCCAAACCT CACAAGGAAC AGGAGAAAAG TCAGGAGATG 120
 GAAAAGAAAG ACTGCTCACT CCCCCAGTCT GTGGCCGTCA CATACACTTT ATTCCAGGAA 180
 AAGAAAATGC CCTTACACAG CATAGCTGAG AACAGGCTCC TGCCTCTCAC AGCAGTCGGC 240
 ATGCACTTAG CCCAGGCGGT GAAAGCCGGC TGCCCCCTGG ATATGGAGCG AGCTGGCCTG 300
 ACCCCAGAGA CTGGAAGAT TATTATGGAT GTCATCCGAA ACCCTCCCAT CAACTCAGAT 360
 ATGTATAAAG TTAACCTCAT CAGAAATGTT GTTCCTGAAA ACATCGACAC GTACCTCATC 420
 CACATGGCGA TTGAGATTCT TCAGAGTGGT TCCGACAGCA GAACCCAGCC TCCTTGATGAT 480
 TCCAGCAGGA AGAGGCGTT CCCCAGTCT GCAGAGAGTT GTGAGAGCTG TAAGGAGAGC 540
 AAAGAGGTGG TCACCGAGAC CAAGGCATCA TCTTCAGAGT CAAAGAGAAA ATTACCTGAG 600
 TGGTTTGCCA AAGGAAATGT GCCCTCAGCT GATACCGGCA GCTCATCATC AATGGCCAAG 660
 ACCAAAAAGA AAGGTCTCT TAGTTAAGAT GACAACGATG GAACAGTTTG TGTGTCTAC 720
 ATCTTCATTC CTATAAGAA TGAAAAGAAA TATTTTAACC TCAAAATTAT TTAAAGTCCA 780
 AAGTGAAGCT CACCTAAACG TCGAGCCATA GAGTCTTTAA TTGCCCGTTG GCAGTTGAGC 840
 TACAGTATCT GAACCTTCTG AGACCCGGAG TGCAGCATAG ACTGTGAAGT CGGCTTCCTT 900
 TCCGATTGCC TTCGAACCG GTGCCACTGT CAGGTTGCAG TTTTCTTTT TTTGCAGCAG 960
 TGTGTGTTGG AAATGGAGGC TGTGTCGCTT TGACATATAG AACAGATCAA TAGTTGCATA 1020
 GGGACAGATA TGAAGATACA GCCGCTCTT GCTTCTTAT GCAGATGCCT GTATGACAGT 1080
 ATCAGTGCAC CAGCCAGCC AGGGAGAATC AGCTTCCATT TAAAAAGGA AAGCGGACAA 1140
 GGAATCCAGT TACAGAAACA ACTAAATTTT ATGCATTTTC TGCAGTTTTT ATTATTCTC 1200
 AATCAAAAGT GTTTTTTGTA CTGAATAGTA AATATACTAA ATTTTCATTT TTTAAAAAAA 1260
 AAAAAAAAAA AAAAAA

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のマウスWRN遺伝子のクローニング手法の概要を示す図である。

【図2】マウスWRN 遺伝子がコードするタンパク質を示す模式図である。

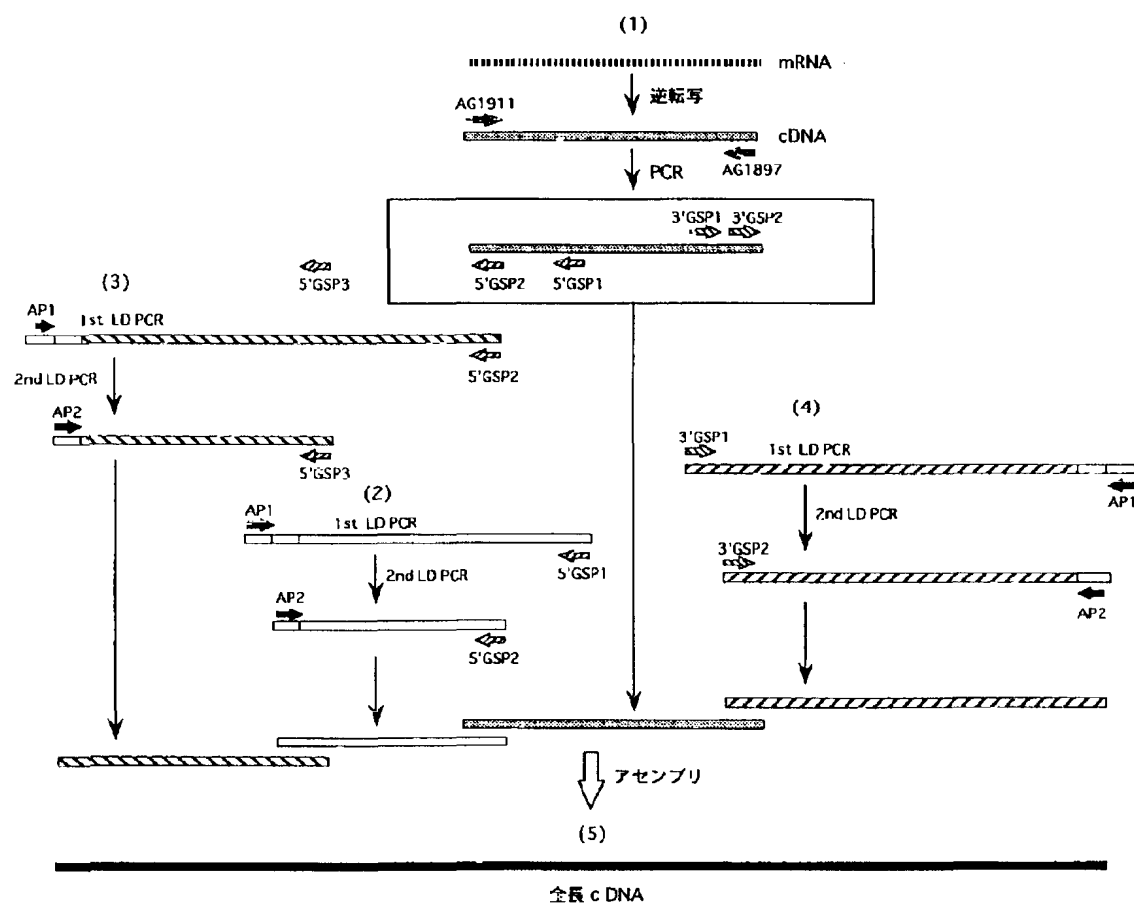
【図3】マウスWRN 遺伝子を含むBAC DNA を用いた FIS

H による解析結果を示す写真である（生物の形態）。

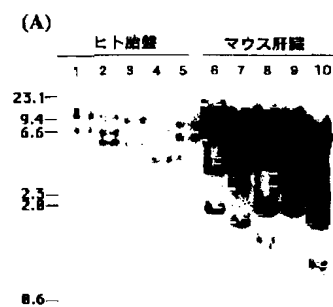
【図4】マウスWRN 遺伝子のサザンブロットによる解析結果を示す電気泳動の写真である。

【図5】マウスWRN 遺伝子のノーザンブロットによる解析結果を示す電気泳動の写真である。

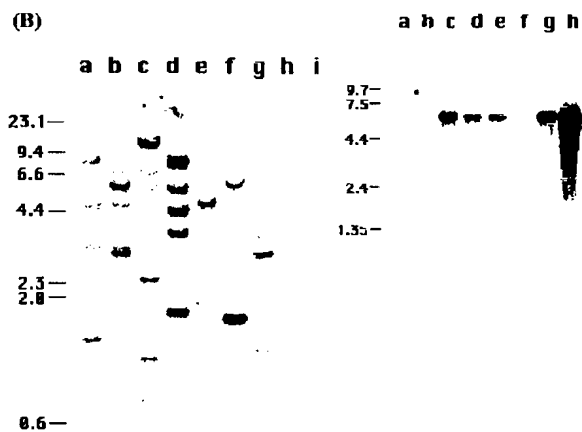
【図1】



【図4】



【図5】



(3 0)

特開平 1 0 - 1 4 6 1 8 8

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

C 1 2 P 21/02

21/08

C 1 2 Q 1/68

F I

C 1 2 P 21/08

C 1 2 Q 1/68

C 1 2 N 5/00

B

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-146188

(43)Date of publication of application : 02.06.1998

(51)Int.Cl.

C12N 15/00
A01K 67/027
C07K 14/47
C07K 16/18
C12N 5/10
C12P 21/02
C12P 21/08
C12Q 1/68

(21)Application number : 08-304721

(71)Applicant : EIJIIN KENKYUSHO:KK

(22)Date of filing : 15.11.1996

(72)Inventor : IMAMURA TSUKASA
SUGAWARA MINORU
FURUICHI YASUHIRO

(54) MOUSE GENE CORRESPONDING TO CAUSATIVE GENE OF HUMAN WERNER'S SYNDROME AND PROTEIN FOR WHICH THE GENE CODES

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new gene corresponding to a causative gene of human Werner's syndrome (WRN), consisting of a mouse WRN gene coding for a polypeptide containing a specific amino acid sequence and useful as a reagent for detecting a WRN gene, etc.

SOLUTION: A new mouse WRN gene coding for a polypeptide substantially containing an amino acid sequence expressed by the formula. The gene corresponds to a causative gene of human Werner's syndrome, is useful for a study to elucidate the relation to the occurrence of human WRN and to clarify a mechanism controlling the homeostasis of a living body, and is useful as a diagnostic probe for tests or prophylaxis of diseases related to the occurrence of WRN, etc. This gene is obtained by amplifying a DMA fraction having a partial sequence high in homology to the human WRN gene, and a DNA fraction whose sequence is unknown and a 3'-terminal-having DNA fraction whose sequence is unknown, both of these DNA fractions existing at the upstream side from that DNA fraction, and further fusing these DNA fractions.

```

Met Glu Val Tyr Ser Leu Glu Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser
      1      5      10      15
Met Glu Ser Glu Arg Lys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Tyr Val Glu Lys
Ser Val Leu Glu Asp Asn Leu Pro Phe Leu Glu Thr Pro Tyr Ser His
      20      25      30      35
          |
          |
          |
Tyr Lys Arg Ser Ser Ser Glu Ser Ser Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe
1392      1395      1398      1401
Ala Lys His Arg Val Asp Met Arg Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser Ser
1393      1396      1400      1403
Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gln Leu Thr Ser
1404      1407

```

*** NOTICES ***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1]A mouse WRN gene which encodes polypeptide which includes substantially an amino acid sequence expressed with the array number 2.

[Claim 2]The gene according to claim 1 which is that in which a mouse WRN gene includes substantially a base sequence expressed with the array number 3.

[Claim 3]A mouse WRN gene which includes substantially a base sequence expressed with the array number 1.

[Claim 4]At least a part of gene given in any 1 paragraph of claims 1-3, and an oligonucleotide probe to hybridize.

[Claim 5]A recombinant DNA which contains a gene of a statement in any 1 paragraph of claims 1-3.

[Claim 6]A transformant transformed by the recombinant DNA according to claim 5.

[Claim 7]A manufacturing method of this polypeptide extracting polypeptide which a mouse WRN gene encodes from a culture obtained by cultivating the transformant according to claim 6.

[Claim 8]Polypeptide which a mouse WRN gene which includes substantially an amino acid sequence expressed with the array number 2 encodes.

[Claim 9]A monoclonal antibody which reacts to the polypeptide according to claim 8 specifically.

[Claim 10]A polyclonal antibody which reacts to the polypeptide according to claim 8 specifically.

[Claim 11]A hybridoma which is obtained by uniting an antibody forming cell and a myeloma cell by which immunity was carried out by the polypeptide according to claim 8 and which produces the monoclonal antibody according to claim 9.

[Claim 12]A reagent for detection of a mouse WRN gene containing the oligonucleotide probe according to claim 4.

[Claim 13]A kit for detection / diagnosis of Werner syndrome containing the polypeptide according to claim 8 and the monoclonal antibody according to claim 9, or the polyclonal antibody according to claim 10.

[Claim 14]A knockout mouse processed so that a function of a gene given in any 1 paragraph of claims 1-3 might be lost.

[Claim 15]A transgenic animal into which a gene embellished so that a gene expression level of a statement might be gone up or descended to any 1 paragraph of claims 1-3 was introduced.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention relates to the use of the manufacturing method of the protein which the new mouse gene corresponding to the gene of cause of human Werner syndrome and this gene encode, and this protein, this protein, and this gene.

[0002]

[Description of the Prior Art]Werner syndrome is an autosomal recessive inheriary disease which presents the complicated condition of disease closely connected with aging. It is known that Werner syndrome shows the feature seen by common old man at a youth term, for example, canities-izing, HAGE, diabetes mellitus, a heart disease, cancer, the regression of the skin, scleroderma Mr. change of the skin, the juvenile cataract, the senium precox, gonadal hypofunction, etc.

[0003]By the way, when the skin cells of Werner syndrome patient origin (fibrocyte) are cultured, the division lives (a passage number, the number of times which can carry out cell division, etc.), it is known experimentally that it is remarkably short compared with the division life of the fibrocyte from a healthy person of the same age (Richard G.A. Faragher et al. and Proc.Natl.Acad.Sci.USA.Vol.90.) pp12030-12034 (1993). These facts are among those in which the Werner gene which causes Werner syndrome has originally controlled the human aging process.

It has suggested that a certain variation has taken place to this gene.

[0004]Therefore, using this gene for gene therapy, gene diagnosis, etc. is expected by carrying out cloning of the Werner gene. Conventionally, as for the Werner gene, the thing of the Homo sapiens origin is known (Science, 272,258-262, 1996). However, since aging is not what is restricted to Homo sapiens, it is possible that the gene which is equivalent to the Werner gene also in animals other than Homo sapiens exists.

[0005]

[Problem(s) to be Solved by the Invention]An object of this invention is to provide the use of the manufacturing method of the protein which the human new mouse gene and this gene corresponding to a gene of cause of Werner syndrome encode, and this protein, this gene, and this protein.

[0006]

[Means for Solving the Problem]As a result of inquiring wholeheartedly based on an aforementioned problem, this invention person succeeds in carrying out cloning of the mouse WERUNA gene (mouse WRN gene) from RNA of a mouse testis or spleen origin, and came to complete this invention. That is, this invention is a mouse WRN gene which encodes polypeptide which includes substantially an amino acid sequence expressed with the array number 2. What includes substantially a base sequence expressed with the array number 1 or 3, for example as this gene is mentioned.

[0007]As long as it has here a function in which polypeptide of this invention brings about Werner syndrome, with a "real target", As long as it has a function in which a mouse WRN gene

of this invention makes polypeptide of this invention reveal, it means that variation, such as deletion, substitution, addition, and insertion, may arise in an amino acid sequence included in the polypeptide concerned, or a base sequence of the gene concerned.

[0008]Therefore, that etc. in which the 1st methionine (Met) of an amino acid sequence expressed with the array number 2, for example is carrying out deletion are contained in protein by change of this amino acid sequence. A degeneracy isomer which encodes the same different polypeptide only in a degenerate codon besides a base sequence which encodes amino acid contained in polypeptide of this invention is also contained in a gene of this invention.

[0009]This inventions are said at least a part of mouse WRN gene and an oligonucleotide probe to hybridize. This invention is a recombinant DNA containing said mouse WRN gene. This invention is the transformant transformed by said recombinant DNA.

[0010]This invention is a manufacturing method of this polypeptide extracting polypeptide which a mouse WRN gene encodes from a culture obtained by cultivating said transformant. This invention is polypeptide which includes substantially an amino acid sequence expressed with the array number 2 and which a mouse WRN gene encodes.

[0011]This invention is a monoclonal antibody or a polyclonal antibody which reacts to said polypeptide specifically. This invention is a hybridoma which is obtained by uniting an antibody forming cell and a myeloma cell by which immunity was carried out by said polypeptide and which produces said monoclonal antibody.

[0012]This invention is a reagent for detection of a mouse WRN gene containing said oligonucleotide probe. This invention is a kit for detection / diagnosis of Werner syndrome containing said polypeptide and said monoclonal antibody, or a polyclonal antibody.

[0013]This invention is a knockout mouse processed so that a function of said mouse WRN gene might be lost, or the transgenic animal into which a gene embellished so that a mouse WRN gene expression level might be gone up or descended was introduced. Hereafter, this invention is explained in detail.

[0014]

[Embodiment of the Invention]The gene (mouse WRN gene) of the mouse corresponding to the gene of cause of the Werner ** of Homo sapiens who became clear by this invention encodes what includes substantially the amino acid sequence expressed with the array number 2. The polypeptide of this invention contains seven helicase motifs well saved between Homo sapiens and a mouse in an amino acid level, as shown in drawing 2. From the result of FISH shown in drawing 3, it was checked that the mouse WRN gene of this invention exists in 8 A4 of the mouse chromosome No. 8th so that clearly. which clarified a possibility that the mouse WRN gene existed as a single copy on a mouse genome, by the southern blot analysis, this invention persons (drawing 4 A). From the analysis result by Zoo Blot, since the gene of the other type living thing origin equivalent to a mouse WRN gene had the base sequence and homology of a mouse WRN gene, it can carry out cloning by (drawing 4 B) and known art.

[0015]From the multi-organization (Multi-Tissue) northern-blot-analysis result (drawing 5) which investigates how the mouse WRN gene is revealed in various organs, a mouse WRN gene, It turned out that it is strongly revealed in a spleen and a testis, and is revealed to a degree in the middle in a lung, liver, and the kidney, and a small deer manifestation has not been carried out in a brain, the heart, and skeletal muscle.

[0016]Synthesis of the above result will suggest strongly that a mouse WRN gene is one of the genes in connection with fundamental constant maintenance of (drawing 5) and a living body since it was saved comparatively well (drawing 4 B) and the high manifestation was accepted in various organizations of a mouse over the seed. The gene of this invention is useful to the research for solving relation with the human Werner syndrome onset, and to it a break through of this gene expression control, Also when solving the mechanism which manages constant maintenance of a living body, it is useful also to the invention of the new drugs for maintaining the fundamental homeostasis of a life useful.

[0017]The mouse WRN gene of this invention can be identified as follows, and can be acquired, for example.

1. The cloning mouse WRN gene of a mouse WRN gene, It is based on two principles, the Long-

distance (LD) PCR method and the Suppression PCR method, and is RACE (M.A. et Rapid Amplification of cDNA Ends; Frohman). It can obtain by performing al., Methods Enzymol. Vol. 218, and pp340-358 (1993). Namely, the DNA fragment in which a mouse WRN gene has a high partial sequence of a human WRN gene and homology. And the DNA fragment in which are a DNA fragment which has the DNA fragment and three-dash terminal which are located in the upper stream, and in which are a DNA fragment (the DNA fragment which has a five prime end is included), and arrangement is strange, and arrangement is stranger than this DNA fragment is amplified. It can obtain as cDNA of perfect length by fusion of these DNA fragments.

[0018] In this invention, cloning of cDNA of perfect length can be performed, for example using a commercial kit (MarathonTM cDNA Amplification Kit; CLONETECH). The outline of cloning of cDNA is shown in drawing 1.

[0019] First, the DNA fragment (partial cDNA fragment) which has a high partial sequence of the Homo sapiens WRN gene of a mouse derived and homology is amplified. Although this partial cDNA fragment is strange, it can acquire arrangement from a mouse testis or poly(A)+RNA of spleen origin. That is, cDNA is compounded using reverse transcriptase from this RNA, and a partial cDNA fragment is prepared by RT-PCR (drawing 1 (1), frame enclosure portion). Next, after determining the arrangement of the obtained partial cDNA fragment, four kinds of gene specific primers (GSP) are designed based on the arrangement of this partial cDNA fragment (5'GSP1, 5'GSP2, 3'GSP1, and 3'GSP2). GSP is a primer needed in order to amplify what has the arrangement of the DNA fragment which exists in the field by the side of 5' side and 3' side stranger than the partial cDNA arrangement concerned. The arrangement of GSP can be arbitrarily chosen from the partial cDNA arrangement concerned, and the arrangement can be acquired by chemosynthesis. this invention — the portion cDNA concerned — 5' — setting to 5' 'GSP1 and 5' GSP2 GSP used when amplifying near strange arrangement — the portion cDNA concerned — 3' — GSP used when amplifying near strange arrangement is set to 3' 'GSP1 and 3' GSP2 (frame enclosure portion of drawing 1 (1)).

[0020] Next, the DNA fragment which exists in 5' side and 3' side from the portion cDNA is amplified. cDNA (for example, cDNA ReadyTM of CLONETECH) of the origin of a commercial mouse testis, a spleen, etc. as a mold It can use. Although the arrangement of the DNA fragment used as this mold is strange, adapter arrangement is added to the end of each DNA fragment. Then, the amplification reaction (LD PCR) of a cDNA fragment with strange arrangement with which the adapter was connected is performed twice, using as a primer the primer (it is called an adapter primer (AP)) hybridized in adapter arrangement, and said GSP.

[0021] For example, the fragment obtained by performing PCR using AP1 and 5'GSP1 first in the reaction of drawing 1 (2) is used as a mold. Next, PCR is performed using the primer (AP2 and 5'GSP2) which can be hybridized to the field inside the position of said AP1 and 5'GSP1 (nested PCR). The same may be said of drawing 1 (3) and the reaction of (4). However, about 5'GSP3 used for the reaction of drawing 1 (3), after determining the arrangement of the reaction product acquired at the reaction of drawing 1 (2), it is designed based on the arrangement concerned.

[0022] It is based on the position of a partial cDNA fragment (expressed with the array number 17) in this invention. It is a DNA fragment located in the upper stream rather than this 5'-RACE-1 A product and 5'-RACE-2 It is considered as a product (they are drawing 1 (2) and a reaction product of (3), respectively), and the DNA fragment located downstream is used as a 3'-RACE product (reaction product of drawing 1 (4)).

[0023] Since AP has the same arrangement as the cohesive end of an adapter, annealing is not carried out to an adapter but it elongates only from gene specific primers (GSP) in the first amplification (this is called Suppression PCR).

[0024] Next, 5'-RACE-1 produced by making it above The assembly of a product and a 5' -RACE-2 product, partial cDNA fragment, and 3'-RACE product is performed. That is, annealing of the portion overlapped between each fragment is carried out. The assembly of each above-mentioned product can be performed according to the description of a kit (cDNA

ReadyTM; CLONETECH). As a result, cDNA of perfect length including 5' - and 3' - both ends is obtained (drawing 1 (5)).

[0025]A decision of the base sequence of obtained cDNA is made by the method which used as the base PCR indicated by Hattori and others [Electrophoresis 13,560-565] (1992). Namely, it reacts using PRISM Sequencing Kit containing the fluorescence dye deoxy terminator made from Perkin Elmer, Auto sequencer made from Applied Biosystem (model ABI 373) A base sequence is read and data is analyzed by attached Macintosh computer.

[0026]Said 5'-RACE-1 A base sequence can be similarly determined about a product and a 5'-RACE-2 product, partial cDNA fragment, and 3'-RACE product, and it can obtain as a partial fragment of a mouse WRN gene, respectively.

[0027]Once a base sequence is determined, a desired gene can be obtained after that chemosynthesis, PCR using the primer compounded from the determined base sequence concerned, or by making the DNA fragment which has this base sequence hybridize as a probe.

[0028]It is 5'-RACE-2 to 5'-RACE-1 product and the array number 19 in the array number 18. Although a 3'-RACE product is illustrated to the high partial cDNA fragment of the Homo sapiens WRN gene and homology, and the array number 20 and the base sequence of a WRN gene is illustrated to a product and the array number 17 at the array numbers 1 and 3, If it is the arrangement which supports WRN gene activity intrinsically, it is possible to introduce variation into that base sequence by not the thing limited to this arrangement but deletion, insertion, substitution, addition, etc. Introduction of variation is performed by the publicly known mutation introducing method (for example, method using TAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kit of TAKARA SHUZO CO., LTD.) etc.

[0029]II. In Dual-color FISH analysis this invention using BAC DNA. Dual-color FISH analysis using BAC DNA containing cDNA obtained by said cloning for the purpose of checking the existence position on the chromosome of a mouse WRN gene is conducted.

[0030]FISH (Fluorescence in situ hybridization) is the method of detecting in the form which makes the DNA probe which labeled fluorescently hybridize and is a foregone conclusion about the position of the DNA on a nucleus. As a specimen, the cell of the metaphase interkinesis or a chromosome can be seen clearly is used.

[0031]The cell of the metaphase can be obtained in the following procedure. A mouse embryo nature stem cell (Embryonic Stem cell; henceforth an embryonic stem cell) is stimulated by a phytohemagglutinin (PHA), cell division is promoted, and division is stopped by the metaphase using colcemid. A cell is extended on a slide glass, after fixing with acetic acid/methanol solution. The specimens on a slide glass are a formamide and SSC. [Standard Saline Citrate; It is made to denaturalize by 0.15M NaCl and 0.015M Sodium Citrate] (pH 7.0). Next, the sign was carried out with the digoxigenin or biotin. If a DNA probe is made to react, this sign DNA will be hybridized with a specimen. Next, if it processes and labels fluorescently by an anti-digoxigenin antibody or FITC-sign avidin etc. which carried out the RODAMIN sign, the position which the DNA probe hybridized can be seen [FITC / red and] as a green signal about RODAMIN.

[0032]III. The restriction enzyme etc. cut with the analysis Southern blotting by the analysis (1) Southern blotting of cDNA clone. It is a technique aiming at detecting the gene made into the purpose out of a DNA fragment.

[0033]First, a DNA fragment is separated according to the difference in size by the electrophoresis of agarose gel. Next, by alkali and a salt, DNA is denatured and it moves to a nitrocellulose filter. It is made to hybridize with the probe which carried out the sign of this filter by [³²P], and a filter is applied to autoradiography. As a result, the hybridized DNA fragment is detected. By using this method, existence of the number of genes (copy number) and a family etc. can be known. As a probe, the fragment (oligonucleotide) containing said at least a part of perfect length cDNA is used. For details, it describes in Example 3.

[0034](2) The analysis Northern blot by a Northern blot is a technique for detecting specific RNA out of the mixture of RNA, and is a technique used for the purpose of detecting the target size and quantity of RNA.

[0035]After performing extraction of a cell or RNA from an organization, for example using high concentration guanidinetiocyanate and carrying out deproteinization by phenol/chloroform, RNA is refined by alcoholic precipitate. By agarose gel electrophoresis, fractionation of the RNA is

carried out by the difference in size, and it is made to denaturalize by alkali and a salt. Next, RNA is moved to a nitrocellulose filter and it is made to hybridize with the cDNA probe which carried out the label by [³²P]. And it is made to expose with autoradiography and a probe and the hybridized target RNA are detected.

[0036]By this method, mRNA corresponding to the arrangement of cDNA used for the probe is detected, and the target size and relative expression amount of perfect length of a gene can be known. 3'-UT (278 bp) which is some perfect length cDNA obtained using Marathon cDNA Kit for example as a probe is used. For details, it describes in Example 4.

[0037]IV. The transformant of production this invention of a transformant is obtained by introducing recombination object DNA of this invention into the host who suits the expression vector used when producing this recombination object DNA. The refined gene is inserted in the restriction enzyme part or multi-cloning site of suitable vector DNA, a recombinant DNA is produced, and a host cell is transformed using the recombinant DNA concerned.

[0038]Especially if vector DNA for inserting a DNA fragment can be reproduced at a host cell, it will not be limited, for example, plasmid DNA, phage DNA, etc. are mentioned. As plasmid DNA, for example Plasmid pUC118 (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), pUC119 (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), pBluescript SK+ (made by Stratagene), pGEM-T (made by Promega), etc. are mentioned, and M13mp18, M13mp19, etc. are mentioned as phage DNA, for example.

[0039]As a host, especially if the target gene can be revealed, it will not be limited, but both an eukaryotic cell and a prokaryotic cell can be used. For example, the bacteria of Escherichia coli (Escherichia coli), bacillus Subtilis (Bacillus subtilis), etc., Animal cells, such as yeast, such as Saccharomyces cerevisiae (Saccharomyces cerevisiae), a COS cell, and a CHO cell, etc. are mentioned.

[0040]When using bacteria, such as Escherichia coli, as a host, while an independence duplicate is possible for the recombinant DNA of this invention in this host, it is preferred that it is composition including a promotor, DNA of this invention, and the conclusion arrangement of transfer. For example, as Escherichia coli, XL1-Blue (made by Stratagene), JM109 (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), etc. are mentioned, and pBTrp2 grade is mentioned as an expression vector, for example. As a promotor, as long as it can be revealed in hosts, such as Escherichia coli, any may be used. For example, the promotor originating in Escherichia coli, phage, etc., such as a trp promotor, a lac promotor, a P_L promotor, and a P_R promotor, is used.

[0041]In this invention, a transformation, For example, . Method [of Hanahan] . [Techniques for Transformation of E. coli In DNA Cloning, vol.1, Glover,D.M.(ed.) pp109-136, IRLPress (1985)] can perform.

[0042]When using yeast as a host, YEp13 and YCp50 grade are mentioned as an expression vector, for example. As a promotor, gal 1 promotor, gal 10 promotor, etc. are mentioned, for example. As an introducing method of the recombinant DNA to yeast, For example, the electroporation method (Methods. Enzymol., 194,182-187 (1990)), The spheroplast method (Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 84, 1929-1933 (1978)), a lithium acetate method (J. Bacteriol., 153,163-168 (1983)), etc. are mentioned.

[0043]the case where an animal cell is used as a host — as an expression vector — for example, pcDNAI and pcDNAI/Amp (in vitro JIEN) etc. — it is used. As an introducing method of the recombinant DNA to an animal cell, the electroporation method, a calcium phosphate method, etc. are mentioned, for example.

[0044]When using plasmid DNA as a vector DNA, for example inserting EcoRI DNA fragment, plasmid DNA is digested using restriction enzyme EcoRI (made by NEB). Subsequently, mix a DNA fragment and cut vector DNA, for example, T4 DNA ligase (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.) is made to act on this, and recombinant DNA is obtained.

[0045]The colony hybridization which made the probe the DNA fragment in which screening of the above-mentioned transformant contains a part of objective gene, Or compound the 5' primer (FP) based on the base sequence of the target gene, and it ranks second, 3' based on the base sequence of complementary strand DNA Primer (RP) can be compounded and the colony containing the target gene can be chosen by the PCR method using these primers.

[0046]V. If the transformant which holds the recombinant DNA produced by carrying out like the account of raw before delivery of the polypeptide which a mouse WRN gene encodes is cultivated, the polypeptide which the gene of this invention encodes is producible. Although the usual solid culture method may be sufficient as a culturing method, it is preferred to adopt a liquid culture method.

[0047]As a culture medium which cultivates a transformant, for example A yeast extract, peptone, What added one or more sorts of mineral, such as potassium phosphate, magnesium sulfate, and ferric chloride, to one or more sorts of nitrogen sources chosen from a meat extract etc., and also added saccharine material, an antibiotic, a vitamin, etc. suitably as occasion demands to them is used. IPTG etc. may be added to a culture medium as occasion demands, and gene expression may be derived. pH of the culture medium at the time of a culture start is adjusted to 7.2-7.4, and ventilation stirring culture, shaking culture, etc. usually perform 36-38 ** of culture at around 37 ** preferably for 14 to 20 hours.

[0048]After the end of culture, in order to extract the polypeptide of this invention from a culture, the usual protein purification means can be used. That is, a biomass is destroyed by bacteriolysis processing, ultrasonic crushing treatment, grinding processing, etc. using enzymes, such as a lysozyme, and the polypeptide which the gene of this invention encodes is made to discharge out of a biomass. Subsequently, an insoluble matter is removed using filtration or centrifugal separation, and a rough polypeptide solution is obtained.

[0049]From the above-mentioned rough polypeptide solution, in order to refine this polypeptide further, the usual protein purification methods can be used. For example, an ammonium sulfate curing salting method, ion exchange chromatography, canal chromatography, gel filtration chromatography, affinity chromatography, an electrophoresis method, etc. are performed by combining independently or suitably.

[0050]VI. A specific monoclonal antibody can be obtained as follows to the polypeptide which the mouse WRN gene of production this invention of a monoclonal antibody encodes.

[0051](1) Dissolve the polypeptide obtained by method (IV) of the preparation above of the antigen in buffer solution, and, subsequently add an adjuvant. As an adjuvant, the commercial Freund's complete adjuvant, Freund's incomplete adjuvant, etc. are mentioned, and which these things may be mixed.

[0052](2) Medicate mammalian, for example, a rat, a mouse, etc. with the immunogen which is the extraction above of immunity and an antibody forming cell, and was produced by making. 10-500micro[per animal] g Use the immunizing dose of an antigen at once. An immunity part is poured into hypodermic and intraperitoneal mainly in a vein. The interval in particular of immunity is not limited, but from several, it is several week interval, it is an one to three-week interval preferably, and immunity will be carried out 3 to 4 times preferably 2 to 5 times.

[0053]An antibody forming cell is preferably collected in four to five days two to seven days after the last immunity day. As an antibody forming cell, although a spleen cell, a lymph node cell, a peripheral blood cell, etc. are mentioned, a spleen cell or a partial lymph node cell is preferred.

[0054](3) Generally [animals, such as a mouse,] use an available established cell line as a myeloma cell united with a cell fusion antibody forming cell. As a cell strain to be used, it has drug selectivity and is a selective medium (HAT medium: hypoxanthine, aminopterin, and thymine are included) in the state where it does not unite. What has the character in which it can survive only in the state where could not survive but it united with the antibody forming cell is preferred. As an example of a myeloma cell, mouse myeloma cell stocks, such as P3U-1 (made by Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.) and P3x63Ag8.653, are mentioned.

[0055]Next, the cell fusion of the above-mentioned myeloma cell and the antibody forming cell is carried out. DMEM and RPMI-1640 in which cell fusion does not contain a blood serum The amount mixing of isochore of the antibody forming cell of a 10^8 cell / ml and the myeloma cell of a 2×10^5 cell / ml is carried out in culture media for animal cell culture, such as a culture medium, and a fusion reaction is performed under fusion accelerator existence.

[0056]In order to promote cell fusion, a polyethylene glycol with an average molecular weight of 1,500 dalton etc. can be used. An antibody forming cell and a myeloma cell can also be united

using the cell fusion device of marketing using electrical stimulation (for example, electroporation).

[0057](4) Sort out the hybridoma made into the purpose from the cell after selection of a hybridoma, and cloning cell fusion processing. As the method, 5-10 cell / well grade binds cell suspension on a microtiter plate after dilution suitably for example, by fetal-calf-serum content RPMI-1640 culture medium etc., a selective medium is added to each well, and it cultivates by exchanging selective media suitably henceforth. As a result, the cell grown after a culture start and from around about the 14th by a selective medium can be obtained as a hybridoma.

[0058]It is screened whether the target antibody exists in the culture supernatant of the increased hybridoma. The screening of a hybridoma should just follow the usual method and is not limited in particular. For example, a part of culture supernatant contained in the well grown as a hybridoma can be collected, and enzyme immunoassay (EIA; enzyme immuno assay), RIA (radio immuno assay), etc. can perform. Cloning of syncytium is performed by limiting dilution etc. and establishes the hybridoma which is a monoclonal-antibody-production cell eventually.

[0059](5) As a method of extracting a monoclonal antibody from the hybridoma in which the monoclonal antibody carried out extraction establishment, usual cell cultivation or the ascites forming method etc. is employable. In cell cultivation, a hybridoma in animal-cell-culture culture media, such as 10% fetal-calf-serum content RPMI-1640 culture medium, a MEM culture medium, or a serum free medium, It can cultivate for ten to 14 days by the usual culture condition (for example, 37 **, 5%CO₂ concentration), and an antibody can be acquired from the culture supernatant.

[0060]In the case of the ascites forming method, abbreviation 5×10^6 individual administration of the hybridoma is carried out intraperitoneal [of the mammalian of myeloma cell origin and a congener system animal], and it proliferates a hybridoma in large quantities. And ascites or a blood serum is collected in one to two weeks.

[0061]In the extraction method of the above-mentioned antibody, when refining of an antibody is needed, it can refine by choosing suitably publicly known methods, such as an ammonium sulfate curing salting method, ion exchange chromatography, affinity chromatography, and gel chromatography, or combining these.

[0062]VII. Dissolve the polypeptide obtained by method (IV) of the preparation above of the production (1) antigen of a polyclonal antibody in buffer solution, and, subsequently add an adjuvant. As an adjuvant, the commercial Freund's complete adjuvant and the Freund's incomplete adjuvant are used.

[0063](2) Usually use a rabbit, a guinea pig, a goat, a sheep, etc. as an immune animal. If a rabbit is taken for an example, subcutaneous injection of the polypeptide of 100microg to 500microg will usually be carried out to the planta of a rabbit with the Freund's complete adjuvant. In two weeks, tales doses of antigens are mixed with the Freund's incomplete adjuvant, and an intramuscular injection is carried out. An intramuscular injection is repeated in two more weeks, good partial blood collecting is carried out one week after the last immunity, and antibody titer is measured by the EIA method etc. If antibody titer has reached the target value, the exsanguination will be carried out, if antibody titer is low, an intramuscular injection will be repeated, and immunity is repeated until antibody titer reaches the target value. The refining of the antibody by ammonium sulfate fractionation can adopt the method described by paragraph (V) of the monoclonal antibody from a blood serum.

[0064]VIII. The reagent mouse WRN gene for detection of the polypeptide which a mouse WRN gene and its gene encode, (Drawing 5) since it was saved comparatively well (drawing 4 B) and the high manifestation was accepted in various organizations of a mouse over the seed, It is strongly suggested by that it is one of the genes which encode the strange constituent in connection with fundamental constant maintenance of a living body, and a break through of this gene expression control, When solving the mechanism which manages constant maintenance of a living body, it is useful also to the invention of the new drugs for maintaining a living body's fundamental homeostasis useful, and it is useful also to the research for solving relation with the Werner syndrome disease onset.

[0065]When using the gene of this invention as a reagent for detection of Werner syndrome, high BURIDAISESHON is performed by making into a probe the oligonucleotide containing at least a part of mouse WRN gene by which cloning was carried out, and detection is performed by Southern or a Northern blot technique. A DNA probe, a RNA probe, etc. are mentioned as an oligonucleotide probe.

[0066]Detection is performed by EIA, RIA, or western blot analysis when using the polyclonal antibody and monoclonal antibody to the polypeptide which encodes the gene of this invention as a reagent for detection of Werner syndrome.

[0067]IX. In transgenic animal this invention into which the gene embellished so that a gene expression level might be gone up or descended was introduced, By making some important parts [a part of] (an enhancer, a promotor, the intron, etc.) which are adjusting gene expression normally cause variation, such as deletion, substitution, and insertion, it can embellish so that it may compare with an original gene expression level and may go up or descend artificially.

[0068]Introduction of the above-mentioned variation can be performed with which a publicly known technique, for example, a point mutation introduction kit (for example, TAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kit of TAKARA SHUZO CO., LTD.) etc. can be used. As a transgenic animal, a transgenic mouse, a transgenic rat, etc. are mentioned, for example.

[0069]As a vector which holds the gene which introduced said variation, two, a vector to which excessive manifestation of the WRN gene is carried out, and an antisense vector which controls the manifestation conversely, can be considered. Drugs for positive sorting for the selection of a gene to any case (for example, neomycin etc.) The resistance gene is made to connect.

[0070]Although the method of pouring DNA into a fertilized egg directly can also use insertion of the gene to a cell, since the embryonic stem cell has the advantage that it can cultivate and a mouse etc. can moreover be generated from this cell, its method of using various embryonic stem cells is more efficient, and is preferred. As an embryonic stem cell, TT2 cell is mentioned, for example (Shin-ichi Aizawa, gene targetting, 1995, Yodosha).

[0071]The above-mentioned vector DNA containing a WRN gene is introduced to an embryonic stem cell by electroporation, positive sorting is carried out with a neomycin, and the target variation embryonic stem cell is obtained. A capillary tube etc. are used for 8 ***** or cell term **, and the above-mentioned embryonic stem cell is poured into it. Then, 8 ***** or cell term ** is transplanted to the oviduct of direct assumed parents, or what carried out day culture and was generated to the blastocyst is transplanted to the uterus of assumed parents. A chimera animal is chosen among the children borne by assumed parents. Although the animal with a high contribution of a chimera has the high possibility of a germ cell line, the check of being a chimera animal of a germ cell line is possible by crossing a chimera animal with the normal animal. A heterozygote animal is obtained by mating with the chimera animal of a germ cell line, and the normal animal, and a homozygote animal can be obtained by mating of heterozygotes.

[0072]X. The knockout mouse of knockout-mouse this invention is processed so that the function of a mouse WRN gene may be lost. The disposal method is explained. The genomic DNA containing a mouse WRN gene is obtained from PCR or a genomic library, and the vector which inserted neo resistance gene into one of the exons is built. The function of this exon is destroyed by this operation. It can come, simultaneously the thymidine kinase (tk) gene for negative sorting or the diphtheria (DT) toxin gene is connected into this vector. This vector DNA is introduced into an embryonic stem cell by electroporation. Next, this cell is cultured under existence of the neomycin for positive sorting and the nucleic acid analog FIAU for negative sorting (fluoriodoadenosyluracil), or a diphtheria toxin. The diphtheria toxin sensitive cell which started illegitimate recombination by this operation, and G418 sensitive cell which does not cause recombination at all are removed, and only the cell which started homologous recombination remains. The gene containing the destroyed exon is knocked out in this cell.

[0073]The obtained cell is poured into ***** of a mouse, or 8 cell term **. After that, a knockout mouse is producible with the same technique as production of a transgenic animal.

[0074]

[Example]Hereafter, an example explains this invention still more concretely. However, this

invention does not limit the technical scope to these examples.

[0075][Example 1] Cloning (1) of the mouse WRN cDNA using MarathonTM cDNA Amplification Kit Preparation (i) of the partial cDNA fragment of the mouse WRN gene by RT-PCR Preparation and amplification of cDNA by reverse transcription [0076]Poly(A)+RNA (CLONETECH) about 1microg, dithiothreitol, The reaction mixture containing dNTP (dATP, dCTP, dGTP, and dTTP), buffer for reverse transcriptase, and reverse transcriptase Super Scriptor II was made to react at 42 ** for 30 minutes, RNase processing was carried out after that, and cDNA was prepared. This cDNA is made into a template and it is AG1897 (array number 8) and AG1911 (array number 9). It was considered as the primer and the RT-PCR reaction was performed using Taq DNA polymerase.

[0077]RT-PCR was performed in the mixing reaction liquid of 1.5 mM MgCl₂, 20 mM dNTP, 1 x Perkin-Elmer Cetus buffer, each primer 0.3 mM, and 10microl containing 0.25 unit Taq polymerase. First, the above-mentioned reaction mixture is made to react at 94 ** for 5 minutes, next it carries out for 30 seconds at 94 **, the reaction for 1 minute is made into one cycle at 5 seconds and 72 ** at 55 **, and it is 35 cycle ***** about this. The obtained reaction mixture was made to react at 72 more ** for 5 minutes, and the DNA solution was obtained.

[0078](ii) The preparation above-mentioned DNA solution of the RT-PCR product for base sequence determination, T4 DNA ligase (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), the buffer (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), and the solution containing pGEM-T vector (made by Promega) were made to react at 15 ** for 3 hours, and the fragment of the RT-PCR product was built into the pGEM-T vector. By this vector, make Escherichia coli JM109 transform and this Escherichia coli, X-gal, IPTG, and ampicillin (the 50 microg/ml last concentration) About the white Escherichia coli colony scattered on included LB bacto agger plate, by LB culture medium containing ampicillin (the 50 microg/ml last concentration). Shaking culture was carried out at 37 ** for 16 hours or more, and plasmid DNA was collected and refined using the robot made from Kurabo (PI-100sigma).

[0079]After RNase processing decomposed RNA, the 20% polyethylene glycol / 2.5M NaCl solution performed ethanol precipitate except for the small molecular compound, and it was considered as the sample for DNA sequences. Usually, 5 mul was used for the analysis of a direct base sequence, when 7 mul was analyzed by 1.5 % agarose gel and specific amplification was accepted.

[0080](iii) After inserting in pGEM-T vector (made by Promega) the DNA fragment made into the purpose of determining a base sequence and making it increase with Escherichia coli, the plasmid was refined with the alkaline process using a robot (product [made by Kurabo] PI-100sigma). After processing the obtained refining plasmids by RNase, it processed with the solution of the polyethylene glycol/salt solution, and DNA was refined except for the small molecule.

[0081] PCR was performed by making refined DNA into template DNA by a non-sign primer, four kinds of fluorescent-labeling nucleotide 5'-triphosphate, and the system of reaction that added Taq polymerase.

[0082]The reaction mixed liquor is as follows.

Thermal Ready Reaction Mix 8 mul template DNA 2.0 mul primer 2 pmol/mul dH₂O 8.5 mul

[0083]It carries out for 10 seconds (denaturation) at 96 **, it makes the reaction for 4 minutes (extension) one cycle at 5 seconds (annealing) and 60 ** at 55 **, and PCR is 25 cycle ***** about this. In this reaction, the DNA fragment into which the fluorochrome went at random is compounded, and analyzing it by a sequencer can determine the base sequence which continued eventually.

[0084]Automatic DNA sequencer made from Applied Biosystem (model ABI 373) performed the obtained cDNA clone using the following primer.

The M13F side The array number 4M13R side cDNA of 1.4 kb expressed with the array number 5SP6 side array number 6T7 side array number 7, as a result the array number 17 was obtained.

[0085]Next, based on the arrangement of the partial cDNA fragment (array number 17) of the mouse WRN obtained by the RT-PCR assay, 3' GSP1 (array number 13) and 3' GSP2 (array

number 14) was produced on each primer, i.e., the complementary strand of this cDNA, on 5'GSP1 (array number 10), 5'GSP2 (array number 11), and this cDNA chain.

[0086](2) 5' of a partial cDNA fragment - a side and 3' - making into the origin cDNA Ready™ (CLONETECH) of the amplification mouse testis of the cDNA fragment of strange arrangement, and spleen origin which exists in - side, and, (i) 5'-RACE-1 and (ii) 5'-RACE-2 and (iii) 3'-RACE was performed. Hereafter, each RACE is explained in order.

[0087](i) 5'-RACE-1 cDNA Ready™ of the amplification (i-a) 1st LD PCR mouse testis of a product and spleen origin is made into a template, AP1 (array number 15) And the following presentations and a cycle program (Tables 1 and 2) performed the PCR reaction using 5'GSP1 (array number 10).

[0088]

[Table 1]

表1. PCR反応溶液	
組 成	
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP1 (配列番号10) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス
	36 μ l dH ₂ O
	5 μ l 10×KlenTaq PCR buffer
	1 μ l 10mM dNTP
	1 μ l 50×KlenTaq DNA polymerase
50 μ l (全量)	

[0089]

[Table 2]

表2. PCRサイクルプログラム	
1.	(94℃で2分) × 1サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30サイクル
3.	4℃で静置

[0090](i-b) Although the 2nd LD PCR1st PCR product was diluted with 1xTE (pH 8.0) 50 times, 5microl is made into a template, The PCR reaction was performed using the nested primer (AP2 (array number 16) and GSP2 (array number 11)) (Tables 3 and 4).

[0091]

[Table 3]

表3. PCR反応溶液	
組 成	
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP2 (配列番号11) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

[0092]

[Table 4]

表4. PCRサイクルプログラム	
1.	(94℃で2分) × 1サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 20サイクル
3.	4℃で静置

[0093]After 2nd PCR product of 10micro l 1.2% agarose gel electrophoresis, EtBr dyeing was carried out and amplification of the fragment (array number 18) of about 1.8 kbp(s) which are 5' end parts of mouse WRN cDNA was checked.

[0094](ii) cDNA Ready™ of the amplification (ii-a) 1st LD PCR mouse testis of 5'-RACE-2 product and spleen origin is made into a template, The following presentations and a cycle program (Tables 5 and 6) performed the PCR reaction using AP1 (array number 15) and 5'GSP2

(array number 11).

[0095]

[Table 5]

表5. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス脾臓cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP2 (配列番号11) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

[0096]

[Table 6]

表6. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30サイクル
3.	4℃で静置

[0097](ii-b) Although the 2nd LD PCR1st PCR product was diluted with 1xTE (pH 8.0) 50 times, 5microl is made into a template, nested primer (the PCR reaction was performed using AP2 (array number 16) and 5'GSP3 (array number 12) (Tables 7 and 8).) 5'GSP3 (array number 12) are said 5'-RACE-1. It designs and compounds based on the arrangement of a product.

[0098]

[Table 7]

表7. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)
1 μ l	5'GSP3 (配列番号12) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

[0099]

[Table 8]

表8. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 20サイクル
3.	4℃で静置

[0100]After 2nd PCR product of 10micro l 1.2% agarose gel electrophoresis, EtBr dyeing was carried out and amplification of the fragment (array number 19) of about 1.2 kbp(s) which are 5' end parts of the mouse WRN cDNA was checked.

[0101](iii) cDNA Ready™ of a mouse testis and spleen origin is made into a template like 3'amplification (iii-a) of -RACE product 1st LD PCR5'-RACE, AP1 (array number 15) And the PCR reaction was performed using 3'GSP1 (array number 13) (Tables 9 and 10).

[0102]

[Table 9]

表9. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	3'GSP1 (配列番号13) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

[0103]

[Table 10]

表10. PCRサイクルプログラム

- | | |
|----|-----------------------------|
| 1. | (94℃で2分) × 1 サイクル |
| 2. | (94℃で30秒, 68℃で4分) × 30 サイクル |
| 3. | 4℃で静置 |

[0104](iii-b) Although the 2nd LD PCR1st PCR product was diluted with 1x TE (pH 8.0) 50 times, 5microl was made into the template, and the PCR reaction was performed using nested primer (AP2 (array number 16) and 3'GSP2 (array number 14)).

[0105]It is the same as that of conditions given in Tables 3 and 4 except using 3'GSP2 as a primer. After applying to agarose gel electrophoresis 2nd PCR product 1.2% of 15micro, as a result of carrying out EtBr dyeing, specific amplification of the mouse WRNcDNA 3'-end part fragment (array number 20) of about 1.3 kbp(s) was checked.

[0106](3) Subcloning of three kinds of fragments (5'-RACE-1 a product, 5'-RACE-2 product and 3'- RACE product) obtained with the overall-length cDNA above (2) of the mouse WRN was carried out to the pGEM-T vector (made by Promega), and sequencing of each fragment was performed. And the mouse WRN cDNA of the perfect length of overall-length abbreviation 5.1kbp expressed with the array number 1 was able to be obtained by combining the partial cDNA fragment obtained above (1) and said three kinds of fragments.

[0107]The base sequence of DNA which encodes this amino acid sequence for the amino acid sequence of the polypeptide of this invention which the base sequence expressed with the array number 1 encodes in the array number 2 is shown in the array number 3.

[0108][Example 2] Separation refinement of BAC DNA with high refining of BAC DNA and FISH purity was carried out by cesium chloride (CsCl) density gradient centrifugation, and it was used for the analysis by FISH.

[0109](1) Recovery and refining of DNA from the cultivation BAC clone of a BAC clone are Smoller(s) et al. Change was added to the method reported by [Chromosoma, 100, and 487-494 (1991)], and was performed to it. That is, it was suspended into LB culture medium of 1L containing chloramphenicol with a last concentration of 12.5 microg/ml, and shaking culture of the Escherichia coli colony containing a single BAC phage clone was carried out at 37 ** overnight.

[0110](2) The alkali SDS method usual from the biomass obtained by the method which indicated the refining BAC DNA of BAC DNA by a CsCl density-grdient centrifugation method above (1) It prepared by [Birnboim and Doly, Nucleic Acids Res. 7, and 1513-1523 (1979)], and refined with the CsCl density-grdient centrifugation method.

[0111]To the biomass collected by cooling centrifugal separation (3,500 rpmx 15 minutes), 50-ml 50mM Sucrose-10mM EDTA-25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 1.5 ml added the mg/ml lysozyme solution, and it incubated at the room temperature quietly for 5 minutes. Then, a 100-ml 0.2M NaOH-1%SDS solution was added, and it incubated quietly in Hikami for 5 minutes. Glacial acetic acid was added 375-ml M KAc-11.5%, and it incubated quietly in Hikami for 5 minutes.

[0112]Cooling centrifugal separation (4,000 rpmx 15 minutes) recovers supernatant liquid, a RNase solution is added so that it may become the 50 microg/ml last concentration there, and tales doses of 2-propanol is added after 1-hour incubation at 37 **. It was neglected at -20 ** for 1 hour. Cooling centrifugal separation (6,000 rpmx 15 minutes) In the back, the decantation removed supernatant liquid and the precipitate containing P1-/PAC DNA was thoroughly air-dried after washing by EtOH 70%. 6-ml 10 mM Tris-HCl-1mM EDTA (pH 8.0) was added, precipitate was dissolved, 6-g CsCl was added there, it was made to fully dissolve, a 10 moremg [/ml] ethidium bromide was 100 mul Added, and it was neglected by -20 ** for 20 minutes. Cooling centrifugal separation (6,000 rpmx 10 minutes) Kiyoshi Gokami was collected, and the ultra high-speed centrifugality beyond 100,000rpm x6 hour separated BAC DNA with the bacteria genome at 22 **. Two dialysis refined BAC DNA except for CsCl after collecting the bands which contain BAC DNA under UV irradiation with isoamyl alcohol, removing an ethidium bromide. 10 mM Tris-HCl-1.25mM EDTA (pH 8.0) was used as a dialysis buffer. This BAC DNA

was used for the analysis by FISH.

[0113](3) The FISH mouse embryonic stem cell was stimulated by PHA, cell division was promoted, and division was stopped by the metaphase using colcemid. The cell was extended on the slide glass, after fixing with acetic acid/methanol solution. The specimens on a slide glass are a formamide and SSC. [Standard Saline Citrate; It was made to denaturalize by 0.15M NaCl and 0.015M Sodium Citrate] (pH 7.0). Next, BAC DNA (BAC-#11315 DNA) containing the mouse WRN gene which carried out the sign by the digoxigenin. The probe was made to react and it was made to hybridize with a specimen. And FITC - It processed by the anti-digoxigenin antibody which carried out the sign, and the specimen was labeled fluorescently.

[0114]As a result, standard which the signal of FITC dyes the telomere of the 8th chromosome specifically as shown in drawing 3 It existed in the short arm portion near the DNA probe. Therefore, BAC-#11315 DNAs containing a mouse WRN gene are the 8th chromosome and 8 A4. It turned out that it exists in a field.

[0115][Example 3] In order to identify the field of the nucleic acid probe by the Southern blotting of a mouse WRN gene by which the analysis sign was carried out, and mouse WRN gene DNA with a complementary base sequence, Southern hybridization was performed as follows.

[0116](1) Agarose gel electrophoresis separated genome DNA 10microg of mouse liver and human placenta origin digested with mouse liver and the genomic DNA restriction enzyme of human placenta origin (BamHI, BglII, EcoRI, HindIII, and PstI) 0.8%. It dips in 150 ml of 0.5N NaOH-1.5M NaCl solutions, and for 30 minutes, gel was shaken slowly and alkaline denaturation was carried out. Gel is lightly washed by deionized water and they are 0.5 M Tris-HCl (pH 7.5) and a 1.5M NaCl solution. It dips in 150 ml, and it shook slowly and was made to counteract for 30 minutes.

[0117]After making the nitrocellulose membrane (made by Amersham) cut in the same size as gel on the other hand become wet with distilled water, it dipped in 2xSSC (0.3M NaCl, 0.03M sodium acid citrate (pH 7.0)). It is a 20xSSC solution to a tray. After having put in 200 ml, dipping sponge and dipping the filter paper (Whatmann 3 MM) of a size suitable subsequently in 2xSSC, it carried on sponge.

[0118]Next, the agarose gel processed as mentioned above was carried on this filter paper, and the nitrocellulose membrane was carried on it, the bunch and weight of the filter paper of the still more nearly same size and the paper towel were carried, and it was made to transfer overnight.

[0119]Genomic DNA is fixed to a nitrocellulose membrane by UV irradiation (wavelength 260 nm, 120 mJ/cm²) after the end of transfer. In accordance with the below-mentioned method, the radioactive label of the mouse WRN cDNA fragment of perfect length was carried out, it was considered as the detection probe of the mouse WRN gene, and the autoradiography by the X-ray film made from Kodack detected eventually (drawing 4).

[0120]5xSSPE, the 10xDenhardt's solution, and the thing that contains SDS and a 100 microg [/ml] denaturation salmon sperm DNA fragment 2% were used for the mouse WRN pre hybridization buffer.

[0121]A result is shown in drawing 4. Drawing 4 A digests the genomic DNA of a human placenta (lanes 1-5) and mouse liver (lanes 6-10) origin with a predetermined restriction enzyme. It is the result of having carried out the blot to the nitrocellulose membrane after separation by agarose electrophoresis, hybridizing the perfect length mouse WRN cDNA of a [³²P] sign to a probe, and detecting this.

[0122]As for the lanes 1 and 6, BglII and the lanes 3 and 8 of BamHI and the lanes 2 and 7 are the things of the fragment in which EcoRI and the lanes 4 and 9 digested HindIII and the lanes 5 and 10 by PstI among drawing 4 A. From the result of drawing 4 A, a possibility that the mouse WRN gene exists as a single copy on a mouse genome is suggested.

[0123](2) PURIME which carried out agarose electrophoresis of the 4micro each of genomic DNA [of the animal origin of nine kinds of Zoo Blot] g, and carried out the blot to nylon membrane — ide — the filter (made by Clontech) was used (drawing 4 B). The detection probe of the mouse WRN gene was the same as that of the above-mentioned, and hybridization and a cleaning

condition followed the protocol of Clontech. It turned out that a mouse WRN gene may exceed a seed and it is saved from drawing 4 B.

[0124]The origin of genomic DNA is as follows. a, Homo sapiens; b, ape; c, rat; d, mouse; e, dog; f, cow; g, rabbit; h, fowl; i, yeast.

[0125][Example 4] analysis (1) by the Northern blot of the mouse WRN. the northern-blot-analysis (i) mouse of the mouse WRN — poly(A)+RNA each 2 extracted from the organization and the organ of the mouse of eight kinds of multi-organization Northern (Multiple Tissue Northern;MTN) blots — agarose electrophoresis of the microg being carried out and, PURIME which carried out the blot to nylon membrane — ide — the filter (made by Clontech) was used (drawing 5).

[0126](ii) In accordance with the below-mentioned method, the radioactive label of the 3'-UT partial (278 bp) of the mouse WRN cDNA probe mouse WRN cDNA was carried out, and this was used as a detection probe of a mouse WRN gene.

[0127](2) In the lunch box type plastic container, the hybridization (i) pre hybridization filter was dipped in the pre hybridization buffer of 100 ml, and the incubation was carried out at 42 ** for 4 hours. A 50% formamide, 5xSSPE, the 10xDenhardt's solution, and the thing that contains SDS and a 100microg/m denaturation salmon sperm DNA fragment 2% were used for the pre hybridization buffer.

[0128](ii) The above-mentioned mouse WRN cDNA fragment 50 ng as a radioactive labeling template of a mouse WRN cDNA probe, The radioactive label was carried out by [α - 32 P]-dCTP (the product made by NEN, the Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd. make) by random primer DNA labeling kit Ver.2 (made by TAKARA SHUZO CO., LTD.), using random hexamer 50 pmol as a primer.

[0129](iii) The hybridization pre hybridization buffer was thrown away and a 50-ml pre hybridization buffer was newly added, and it shook quietly so that air bubbles might not enter under a filter. The probe which carried out the radioactive label to this by [32 P]-dCTP was added so that specific activity might serve as abbreviation 1×10^6 cpm/ml, and it hybridized at 42 ** for 16 hours.

[0130]After hybridization, to the filter, the rinse for 15 minutes was repeated twice at the room temperature using 2xSSC of 100 ml, and a 0.1 %SDS solution, then, 0.2xSSC of 100 ml and a 0.1 % SDS solution were used, and rinse for 15 minutes was performed twice at the room temperature. Except for moisture, it inserted into Saran Wrap (made by Asahi Chemical Co., Ltd.), and autoradiography analysis by BAS1500 system (made by Fuji Photo Film Co., Ltd.) was conducted until the filter changed into the state where it became wet a little.

[0131](3) In the energy-of-radiation memory type two-dimensional sensor (imaging plate; IP) using the analysis photostimulable phosphor by Fuji BAS1500 system. Adhesion exposure of the sample was carried out like the X-ray film, this IP was excited by the helium-Ne laser beam, and the fluorescence emitted according to a light exposure was changed and quantified in a digital variable called PSL (Photo Stimulated Luminescence). A fixed quantity is BAS1500. The system was used. The linearity of the fixed-quantity value by this system is good, and can perform subtraction of a background, measurement of the radiation intensity in the appointed field, and comparison.

[0132](4) The probe was made to hybridize 3'-UT of the mouse WRNcDNA which carried out the [32 P] sign to MTN blot (made by CLONTECH) containing 2mg poly(A)+RNA of tissue-specific-expression result mouse each organization and organ origin of the mouse WRN mRNA.

[0133]The manifestation of the mouse WRN mRNA was broadly accepted by various kinds of organs, and showed a pattern like drawing 5. That is, it turned out that a mouse WRN gene is strongly revealed in a spleen and a testis, it is revealed to a degree in the middle in a lung, liver, and the kidney, and a small deer manifestation has not been carried out in a brain, the heart, and skeletal muscle. Poly The origin of (A)+RNA is as follows.

a, the heart; b, brain; c, spleen; d, lung; e, liver; f, skeletal muscle; g, the kidney; h, testis.

[0134]

[Effect of the Invention]A mouse WRN gene is provided by this invention. the mechanism which

the mouse WRN gene of this invention is useful to the research for solving relation with the human Werner syndrome disease onset, and manages constant maintenance of a living body — a break through — it is useful also to the invention of the new drugs for maintaining the fundamental homeostasis of a life useful also in a top.

[0135]The mouse WRN gene of this invention is useful as the diagnostic probe for relevant sick inspection and prevention with the Werner syndrome disease onset, or a reagent for medical department study immunological [cell biology], biochemical, and the molecular biological research on generating of a mouse individual.

[0136]

[Layout Table]

array number: — length [of 1 arrangement]: — mold [of 5058 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — double strand topology: — kind [of straight-chain-shape arrangement]: — cDNA to mRNA origin living thing name: — information: besides the feature of mouse arrangement — mouse WRN helicase arrangement GGCAGGCGCC : AGACCAGAAG TGCACCGAGG. CGCCCGTTGG TATAAAGTTA. GTAAATGTGA 60GGCCTGTCTC. GATGCCTGGG TCCTGGGCTT. TGGTTCTCAG TCCTCCATAA. ATCATCCTGC 120TGGAGGAGAA. GACCCTTAGA TCTGGCTCTT. CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC. AAATGAAAAT 180AAA ATG. GAA ACC ACT TCA CTA. CAG CGG AAA TTT CCA. GAA TGG ATG TCT 228. Met Glu Thr Thr Ser. Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser 1 5 10 15 ATG CAG AGT CAA AGA TGT GCT ACA GAA GAA AAG GCC TGC GTT. CAG AAG 276Met Gln Ser. Gln Arg Cys Ala Thr. Glu Glu Lys Ala Cys. Val Gln Lys 20 25 30. AGT GTT CTT GAA GAT. AAT CTC CCA TTC TTA. GAA TTC CCT GGA TCC. ATT 324Ser Val Leu Glu. Asp Asn Leu Pro Phe. Leu Glu Phe Pro Gly. Ser Ile 35 40 45 GTT. TAC AGT TAT GAA GCT. AGT GAT TGC TCC TTC. CTG TCT GAA GAC ATT. 372Val Tyr Ser Tyr Glu. Ala Ser Asp Cys Ser. Phe Leu Ser Glu Asp. Ile 50 55 60 AGC ATG. CGT CTG TCT GAT GGC. GAT GTG GTG GGA TTT GAC ATG GAA TGG 420Ser Met Arg Leu Ser Asp Gly Asp Val Val Gly Phe Asp Met Glu Trp 65 7. 0 75 CCG CCC ATA TAC. AAG CCA GGG AAA CGA. AGC AGA GTC GCA GTG. ATC CAG 468Pro Pro Ile. Tyr Lys Pro Gly Lys. Arg Ser Arg Val Ala. Val Ile Gln 80 85 90. 95 TTG TGT GTG TCT GAG. AAC AAA TGT TAC TTG. TTT CAC ATT TCT TCC. ATG 516Leu Cys Val Ser. Glu Asn Lys Cys Tyr. Leu Phe His Ile Ser. Ser Met 100 105 110. TCA GTT TTC CCC CAG. GGA TTA AAA ATG TTA. CTA GAA AAC AAA TCA. ATT 564Ser Val Phe Pro. Gln Gly Leu Lys Met. Leu Leu Glu Asn Lys Ser Ile 115 120 125 AAG AAG GCA GGG GTT GGG ATT GAA GGG GAC CAG TGG AAA CTT CTG CGT 6. 12Lys Lys Ala Gly Val. Gly Ile Glu Gly Asp. Gln Trp Lys Leu Leu. Arg 130 135 140 GAT. TTT GAC GTC AAG TTG. GAG AGT TTT GTG GAG. CTG ACG GAT GTT GCC. 660Asp Phe Asp Val Lys. Leu Glu Ser Phe Val. Glu Leu Thr Asp Val. Ala 145 150 155 AAT. GAA AAG TTG AAG TGC. GCA GAG ACC TGG AGC. CTC AAT GGT CTG GTT. 708Asn Glu Lys Leu Lys. Cys Ala Glu Thr Trp. Ser Leu Asn Gly Leu. Val 160 165 170 175. AAA CAC GTC TTA GGG. AAA CAA CTT TTG AAA GAC AAG TCC ATC CGC TGC 756Lys His Val Leu Gly Lys Gln Leu Leu Lys Asp Lys Ser Ile Arg Cys 180 185 190 AGC AAT TGG AGT AAT TTC CCC. CTC ACT GAG GAC CAG. AAA CTG TAT GCA 804Ser. Asn Trp Ser Asn Phe. Pro Leu Thr Glu Asp. Gln Lys Leu Tyr Ala. 195 200 205 GCC ACT. GAT GCC TAT GCT GGT. CTT ATC ATC TAT CAA. AAA TTA GGA AAT 852Ala. Thr Asp Ala Tyr Ala. Gly Leu Ile Ile Tyr. Gln Lys Leu Gly Asn. 210 215 220 TTG GGT. GAT ACT GTG CAA GTG. TTT GCT CTA AAT AAA. GCA GAG GAA AAC 900Leu. Gly Asp Thr Val Gln. Val Phe Ala Leu Asn Lys Ala Glu Glu Asn 225 230 235 CTA CCT CTG GAG ATG AAG AAA CAG TTG AAT TTA ATC TCC GAA G. AA ATG 948Leu Pro Leu. Glu Met Lys Lys Gln. Leu Asn Leu Ile Ser. Glu Glu Met 240 245. 250 255 AGG GAT CTA. GCC AAT CGT TTT CCA. GTC ACT TGC AGA AAT. TTG GAA ACT 996Arg Asp. Leu Ala Asn Arg Phe. Pro Val Thr Cys Arg. Asn Leu Glu Thr 260. 265 270 CTC CAG AGG. GTT CCT GTA ATA TTG. AAG AGT ATT TCA GAA. AAT CTC TGT 1044Leu. Gln Arg Val Pro Val. Ile Leu Lys Ser Ile. Ser Glu Asn Leu Cys. 275 280 285 TCA TTG. AGA AAA GTG ATC TGT GGT CCT ACA AAC ACT GAG ACT AGA CTG 1092Ser Leu Arg Lys Val Ile Cys Gly Pro Thr Asn Thr Glu Th. r Arg Leu 290 295 300. AAG CCG GGC AGT AGT. TTT AAT TTA CTG TCA. TCA GAA GAT TCA GCT. GCT 1140Lys Pro Gly. Ser Ser Phe Asn Leu. Leu Ser Ser Glu Asp. Ser Ala Ala 305 310. 315 GCT GGA GAA AAA. GAG AAA CAG ATT GGA. AAA CAT AGT ACT TTT. GCT AAA 1188Ala

Gly. Glu Lys Glu Lys Gln. Ile Gly Lys His Ser. Thr Phe Ala Lys 320. 325 330 335 ATT AAA. GAA
 GAA CCA TGG GAC. CCA GAA CTT GAC AGT. TTA GTG AAG CAA 1236Ile. Lys Glu Glu Pro
 Trp Asp Pro Glu Leu Asp Ser Leu Val Lys Gln 340 345 350 GAG GAG GTT GAT GTA TTT AGA
 AAT CAA GTG A. AG CAA GAA AAA GGT GAA. 1284Glu Glu Val Asp. Val Phe Arg Asn Gln. Val
 Lys Gln Glu Lys. Gly Glu 355 360 365. TCT GAA AAT GAA ATA. GAA GAT AAT CTG TTG. AGA
 GAA GAT ATG GAA. AGA 1332Ser Glu Asn. Glu Ile Glu Asp Asn. Leu Leu Arg Glu Asp. Met Glu
 Arg 370 375. 380 ACT TGT GTG ATT. CCT AGT ATT TCA GAA. AAT GAA CTC CAA GAT.
 TTG GAA 1380Thr Cys. Val Ile Pro Ser Ile. Ser Glu Asn Glu Leu. Gln Asp Leu Glu 385. 390 395
 CAG CAA GCT AAA GAA GAA AAA TAT AAT GAT GTT TCT CAC CAA CTT TCT 1428Gln Gln
 Ala Lys Glu Glu Lys Tyr Asn Asp. Val Ser His Gln Leu. Ser 400 405 410 415. GAG CAT TTA
 TCT CCC. AAT GAT GAT GAG AAT. GAC TCC TCC TAT ATA. ATT 1476Glu His Leu. Ser Pro
 Asn Asp Asp. Glu Asn Asp Ser Ser. Tyr Ile Ile 420 425. 430 GAA AGT GAT GAA. GAT TTG GAA
 ATG GAG. ATG CTG AAG TCT TTA. GAA AAC 1524Glu Ser. Asp Glu Asp Leu Glu. Met Glu Met
 Leu Lys Ser Leu Glu Asn 435 440 445 CTA AAT AGT GAC ATG GTG GAA CCC ACT CAC TCT
 AAA TGG TTG GAA ATG 1572 Leu Asn Ser Asp Met Val Glu Pro Thr His. Ser Lys Trp Leu Glu.
 Met 450 455 460 GGA. ACC AAT GGG TGT CTT. CCT CCT GAG GAG GAA. GAT GGA CAC
 GGA AAT. 1620Gly Thr Asn Gly. Cys Leu Pro Pro Glu. Glu Glu Asp Gly His. Gly Asn 465 470
 475. GAA GCC ATC AAA GAG. GAG CAG GAA GAA GAG. GAC CAT TTA TTG CCG. GAA
 1668Glu Ala Ile. Lys Glu Glu Gln Glu. Glu Glu Asp His Leu. Leu Pro Glu 480 485. 490 495 CCC
 AAC GCA. AAG CAA ATT AAT TGC CTC AAG ACC TAT TTC GGA CAC AGC 1716Pro Asn
 Ala Lys Gln Ile Asn Cys Leu Lys Thr Tyr Phe Gly His Se. r 500 505 510 AGT TTT. AAA CCG
 GTT CAG TGG. AAA GTC ATC CAT TCT. GTA TTA GAA GAG 1764Ser. Phe Lys Pro Val Gln.
 Trp Lys Val Ile His. Ser Val Leu Glu Glu. 515 520 525 AGA AGA. GAT AAT GTT GTT GTC. ATG
 GCA ACT GGA TAT. GGG AAG AGT CTG 1812Arg. Arg Asp Asn Val Val. Val Met Ala Thr Gly.
 Tyr Gly Lys Ser Leu. 530 535 540 TGC TTC. CAG TAT CCG CCT GTT. TAT ACA GGC AAG
 ATT. GGC ATT GTC ATT 1860Cys. Phe Gln Tyr Pro Pro. Val Tyr Thr Gly Lys Ile Gly Ile Val Ile
 545 550 555 TCA CCT CTC ATT TCC TTA ATG GAA GAC CAA GTC CTC CAG C. TT GAG
 CTA 1908Ser Pro. Leu Ile Ser Leu Met. Glu Asp Gln Val Leu. Gln Leu Glu Leu 560. 565 570 575
 TCC AAT. GTT CCA GCC TGT TTA. CTT GGA TCT GCA CAA. TCA AAA AAT ATT 1956Ser.
 Asn Val Pro Ala Cys. Leu Leu Gly Ser Ala. Gln Ser Lys Asn Ile. 580 585 590 CTA GGA. GAT
 GTT AAA TTA GGC. AAA TAT AGG GTC ATC. TAC ATA ACT CCA 2004Leu. Gly Asp Val Lys
 Leu. Gly Lys Tyr Arg Val. Ile Tyr Ile Thr Pro. 595 600 605 GAG TTC. TGT TCT GGT AAC TTG
 GAT CTA CTC CAG AAA CTT GAC TCT AGT 2052Glu Phe Cys Ser Gly Asn Leu Asp Leu Leu
 Gln Lys. Leu Asp Ser Ser 610. 615 620 ATT GGC ATC. ACT CTC ATT GCT GTG. GAT GAG
 GCT CAC TGC. ATT TCA GAG 2100Ile. Gly Ile Thr Leu Ile. Ala Val Asp Glu Ala. His Cys Ile Ser
 Glu. 625 630 635 TGG GGC. CAT GAT TTC AGA AGT. TCA TTC AGG ATG CTG. GGC TCT
 CTT AAA 2148Trp. Gly His Asp Phe Arg. Ser Ser Phe Arg Met. Leu Gly Ser Leu Lys. 640 645
 650 655 ACA. GCG CTC CCA TTG GTT. CCA GTC ATT GCA CTC. TCC GCT ACT GCA AGC.
 2196Thr Ala Leu Pro Leu Val Pro Val Ile Ala Leu Ser Ala Thr Ala Ser 660 665 670 TCT TCC
 ATC CGG GAA GAC ATT ATA AGC. TGC TTA AAC CTG AAA. GAC CCT 2244Ser Ser. Ile Arg
 Glu Asp Ile. Ile Ser Cys Leu Asn. Leu Lys Asp Pro 675. 680 685 CAG ATC ACC. TGC ACT GGA
 TTT GAT. CGG CCA AAT CTG TAC. TTA GAA GTT 2292Gln. Ile Thr Cys Thr Gly. Phe Asp Arg
 Pro Asn. Leu Tyr Leu Glu Val. 690 695 700 GGA CGG. AAA ACA GGG AAC ATC. CTT CAG
 GAT CTA AAG CCG TTT CTC GTC 2340Gly Arg Lys Thr Gly Asn Ile Leu Gln Asp Leu Lys Pro
 Phe Leu Val 705 710 715 CGA AAG GCA AGT TCT GCC TGG GAA TTT GAA. GGT CCA ACC
 ATC ATC. TAT 2388Arg Lys Ala. Ser Ser Ala Trp Glu. Phe Glu Gly Pro Thr. Ile Ile Tyr 720 725.
 730 735 TGT CCT TCG. AGA AAA ATG ACA GAA. CAA GTT ACT GCT GAA. CTT GGG AAA
 2436Cys. Pro Ser Arg Lys Met. Thr Glu Gln Val Thr. Ala Glu Leu Gly Lys. 740 745 750 CTG
 AAC. TTA GCC TGC AGA ACA. TAC CAC GCT GGC ATG. AAA ATT AGC GAA 2484Leu. Asn
 Leu Ala Cys Arg. Thr Tyr His Ala Gly Met Lys Ile Ser Glu 755 760 765 AGG AAG GAC GTT CAT
 CAT AGG TTC CTG AGA GAT GAA ATT CAG TGT GT. T 2532Arg Lys Asp Val. His His Arg
 Phe Leu. Arg Asp Glu Ile Gln. Cys Val 770 775 780. GTA GCT ACT GTA GCT. TTT GGA ATG
 GGC ATT. AAT AAA GCT GAC ATT. CGC 2580Val Ala Thr. Val Ala Phe Gly Met. Gly Ile Asn
 Lys Ala. Asp Ile Arg 785 790. 795 CAA GTT ATT CAT. TAT GGT GCG CCT AAG. GAA ATG

GAA TCC TAT. TAC CAG 2628Gln Val. Ile His Tyr Gly Ala. Pro Lys Glu Met Glu. Ser Tyr Tyr Gln
 800. 805 810 815 GAA ATT. GGT AGA GCT GGC CGG GAT GGA CTT CAG AGT TCC TGT
 CAC TTG 2676Glu Ile Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Leu Gln Ser Ser Cys H. is Leu 820 825 830
 CTC. TGG GCT CCA GCA GAC. TTT AAC ACA TCC AGG. AAT CTC CTT ATT GAG. 2724Leu
 Trp Ala Pro. Ala Asp Phe Asn Thr. Ser Arg Asn Leu Leu. Ile Glu 835 840 845. ATT CAC GAT
 GAA AAG. TTC CGG TTA TAT AAA. TTA AAG ATG ATG GTA. AAG 2772Ile His Asp. Glu Lys
 Phe Arg Leu. Tyr Lys Leu Lys Met. Met Val Lys 850 855. 860 ATG GAA AAA TAC. CTT CAC
 TCC AGT CAG. TGT AGG CGA CGA ATC. ATC TTG 2820Met Glu. Lys Tyr Leu His Ser Ser Gln
 Cys Arg Arg Arg Ile Ile Leu 865 870 875 TCC CAT TTT GAG GAC AAA TGT CTG CAG AAG
 GCC TCC. TTG GAC ATT ATG 2868Ser. His Phe Glu Asp Lys. Cys Leu Gln Lys Ala. Ser Leu
 Asp Ile Met. 880 885 890 895 GGA. ACT GAA AAA TGC TGT. GAT AAT TGC AGG CCC. AGG
 CTG AAT CAT TGC. 2916Gly Thr Glu Lys. Cys Cys Asp Asn Cys. Arg Pro Arg Leu Asn. His Cys
 900 905 910. CTT ACT GCT AAC AAC. TCA GAG GAC GCA TCC. CAA GAC TTT GGG CCA.
 CAA 2964Leu Thr Ala. Asn Asn Ser Glu Asp. Ala Ser Gln Asp Phe. Gly Pro Gln 915 920. 925
 GCA TTC CAG CTA CTG TCT GCT GTG GAC ATC CTG CAG GAG AAA TTT GGA 3012Ala
 Phe Gln Leu Leu Ser Ala Val Asp Ile Leu. Gln Glu Lys Phe Gly. 930 935 940 ATT GGG. ATT
 CCG ATC TTA TTT. CTC CGA GGA TCT AAT. TCT CAG CGT CTT 3060Ile. Gly Ile Pro Ile Leu.
 Phe Leu Arg Gly Ser. Asn Ser Gln Arg Leu. 945 950 955 CCT GAT. AAA TAT CGG GGT CAC.
 AGG CTC TTT GGT GCT. GGA AAG GAG CAA 3108Pro. Asp Lys Tyr Arg Gly. His Arg Leu Phe
 Gly. Ala Gly Lys Glu Gln. 960 965 970 975 GCA. GAA AGT TGG TGG AAG. ACT CTT TCT CAC
 CAT CTC ATA GCT GAA GGA 3156Ala Glu Ser Trp Trp Lys Thr Leu Ser His His Leu Ile Ala Glu
 Gly 980 985 990 TTC TTG GTA GAG GTT CCC AAG. GAA AAC AAA TAT ATA. AAG ACA TGT
 TCC 3204Phe. Leu Val Glu Val Pro. Lys Glu Asn Lys Tyr. Ile Lys Thr Cys Ser. 995 1000 1005
 CTC ACA. AAA AAG GGT AGA AAG. TGG CTT GGA GAA GCC. AGT TTG CAG TCT 3252Leu.
 Thr Lys Lys Gly Arg. Lys Trp Leu Gly Glu. Ala Ser Leu Gln Ser. 1010 1015 1020 CCT CCG. AGC
 CTT CTC CTT CAA. GCT AAT GAA GAG ATG. TTT CCA AGG AAA 3300Pro. Pro Ser Leu Leu
 Leu Gln Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg Lys 1025 1030 1035 GTT CTG CTA CCA AGT TCT
 AAT CCT GTA TCT CCA GA. A ACG ACG CAA CAT 3348Val. Leu Leu Pro Ser Ser. Asn Pro
 Val Ser Pro. Glu Thr Thr Gln His. 1040 1045 1050 1055. TCC TCT AAT CAA AAC. CCA GCT
 GGA TTA ACT. ACC AAG CAG TCT AAT. TTG 3396Ser Ser Asn. Gln Asn Pro Ala Gly. Leu Thr
 Thr Lys Gln. Ser Asn Leu 1060 1065. 1070 GAG AGG ACG CAT. TCT TAC AAA GTG CCT. GAG
 AAA GTT TCT TCT. GGG AGT 3444Glu Arg. Thr His Ser Tyr Lys. Val Pro Glu Lys Val. Ser Ser
 Gly Ser 1075. 1080 1085 AAC ATT CCT AAA AAA AGT GCC GTG ATG CCG TCA CCA GGA
 ACA TCT TCC 3492Asn Ile Pro Lys Lys Ser Ala Val. Met Pro Ser Pro Gly. Thr Ser Ser 1090
 1095. 1100 AGC CCC TTA GAA. CCT GCC ATC TCA GCC. CAA GAG CTG GAC GCT. CGG
 ACT 3540Ser Pro. Leu Glu Pro Ala Ile. Ser Ala Gln Glu Leu. Asp Ala Arg Thr 1105. 1110 1115
 GGG CTA TAT. GCC AGG TTG GTG GAA. GCA AGG CAG AAA CAC. GCT AAT AAG 3588Gly.
 Leu Tyr Ala Arg Leu. Val Glu Ala Arg Gln. Lys His Ala Asn Lys. 1120 1125 1130 1135. ATG GAT
 GTA CCT CCA. GCT ATT TTA GCA GCA. AAC AAG GTT TTG CTG GAC 3636Met Asp Val Pro
 Pro Ala Ile Leu Ala Ala Asn Lys Val Leu Leu Asp 1140 1145 1150 ATG G. CT AAA ATG AGA
 CCG ACT. ACT GTT GAA AAC ATG. AAA CAG ATC GAC 3684Met. Ala Lys Met Arg Pro. Thr
 Thr Val Glu Asn. Met Lys Gln Ile Asp. 1155 1160 1165 GGT GTC. TCT GAA GGC AAA GCT.
 GCT CTG TTG GCC CCT. CTG GTG GGA GTC 3732Gly. Val Ser Glu Gly Lys. Ala Ala Leu Leu
 Ala. Pro Leu Val Gly Val. 1170 1175 1180 ATC AAA. CAT TTC TGT CAA GTA. ACT AGT GTT
 CAG ACA. GAC CTC CTT TCC 3780Ile. Lys His Phe Cys Gln. Val Thr Ser Val Gln Thr Asp Leu
 Leu Ser 1185 1190 1195 AGT GCC AAA CCT CAC AAG GAA CAG GAG AAA AGT CAG GAG
 ATG GAA AAG. 3828Ser Ala Lys Pro. His Lys Glu Gln Glu. Lys Ser Gln Glu Met. Glu Lys 1200
 1205 1210. 1215 AAA GAC TGC TCA. CTC CCC CAG TCT GTG. GCC GTC ACA TAC ACT.
 TTA TTC 3876Lys Asp. Cys Ser Leu Pro Gln. Ser Val Ala Val Thr. Tyr Thr Leu Phe 1220. 1225
 1230 CAG GAA AAG. AAA ATG CCC TTA CAC. AGC ATA GCT GAG AAC. AGG CTC CTG
 3924Gln. Glu Lys Lys Met Pro. Leu His Ser Ile Ala Glu Asn Arg Leu Leu 1235 1240 1245 CCT
 CTC ACA GCA GTC GGC ATG CAC TTA GCC CAG GCG GTG AAA GCC GGC 3972 Pro Leu
 Thr Ala Val Gly Met His Leu Ala. Gln Ala Val Lys Ala. Gly 1250 1255 1260 TGC. CCC CTG GAT
 ATG GAG. CGA GCT GGC CTG ACC. CCA GAG ACT TGG AAG. 4020Cys Pro Leu Asp. Met

Glu Arg Ala Gly. Leu Thr Pro Glu Thr. Trp Lys 1265 1270 1275. ATT ATT ATG GAT GTC. ATC
 CGA AAC CCT CCC. ATC AAC TCA GAT ATG. TAT 4068Ile Ile Met. Asp Val Ile Arg Asn. Pro
 Pro Ile Asn Ser. Asp Met Tyr 1280 1285. 1290 1295 AAA GTT AAA. CTC ATC AGA ATG TTA
 GTT CCT GAA AAC ATC GAC ACG TAC 4116Lys Val Lys Leu Ile Arg Met Leu Val Pro Glu Asn
 Ile. Asp Thr Tyr 1300 1305. 1310 CTC ATC CAC ATG. GCG ATT GAG ATT CTT. CAG AGT
 GGT TCC GAC. AGC AGA 4164Leu Ile. His Met Ala Ile Glu. Ile Leu Gln Ser Gly. Ser Asp Ser Arg
 1315. 1320 1325 ACC CAG CCT. CCT TGT GAT TCC AGC. AGG AAG AGG CGT TTC. CCC
 AGC TCT 4212Thr. Gln Pro Pro Cys Asp. Ser Ser Arg Lys Arg. Arg Phe Pro Ser Ser. 1330 1335
 1340 GCA GAG. AGT TGT GAG AGC TGT. AAG GAG AGC AAA GAG. GTG GTC ACC GAG
 4260Ala. Glu Ser Cys Glu Ser Cys Lys Glu Ser Lys Glu Val Val Thr Glu 1345 1350 1355 ACC
 AAG GCA TCA TCT TCA GAG TCA. AAG AGA AAA TTA CCT. GAG TGG TTT 4308Thr. Lys
 Ala Ser Ser Ser. Glu Ser Lys Arg Lys. Leu Pro Glu Trp Phe. 1360 1365 1370 1375. GCC AAA
 GGA AAT GTG. CCC TCA GCT GAT ACC. GGC AGC TCA TCA TCA. ATG 4356Ala Lys Gly.
 Asn Val Pro Ser Ala. Asp Thr Gly Ser Ser. Ser Ser Met 1380 1385. 1390 GCC AAG ACC AAA.
 AAG AAA GGT CTC TTT. AGT TAA 4389Ala Lys. Thr Lys Lys Lys Gly. Leu Phe Ser 1395 1400.
 GATGACAACG ATGGAACAGT. TTGTGTGTCC TACATCTTCA TTCCTATAAA GAATGAAAAG
 4449 AAATATTTTA ACCTCAAAAT TATTTAAAGT CCAAAGTGAA GCTCACCTAA
 ACGTCGAG. CC 4509 ATAGAGTCTT TAATTGCCCG. TTGGCAGTTG AGCTACAGTA.
 TCTGAACCTT CTGAGACCCG. 4569 GATGTCAGCA TAGACTGTGA. AGTCGGCTTC
 CTTTCCGATT. GCCTTCCGAA CCGGTGCCAC. 4629 TGTCAGGTTG CAGTTTTTCT.
 TTTTTTGCAG CAGTGTGTGT. TGGAAATGGA GGCTGTGTCTG. 4689 CTTTGACATA
 TAGAACAGAT. CAATAGTTGC ATAGGGACAG. ATATGAAGAT ACAGCCGGTC. 4749
 TTTGCTTTCT TATGCAGATG. CCTGTATGAC AGTATCAGTG. CACCAGCCCA
 GCCAGGGAGA. 4809 ATCAGCTTCC ATTTAAAAAG. GGAAAGCGGA CAAGGACTCC
 AGTTACAGAA ACAACTAAAT 4869 TTTATGCATT TTCTGCAGTT TTTATTATTT
 CTCAATCAAA AGTGTTTTTT GTACTGAATA 4929GT. AAATATAC TAAATTTTCA.
 TTTTTTAAAT TGTTGTGAGT. GCCTTCAATA TTTGAAGATG 4989 CCAATTTTAA
 ATGTTTTTAT GTTTCACAAA GAATTAAGAA ACTGGAAAAA AAAAAAAAAA
 5049AAAAAAAAA 5058[0137]Array number :. The length of 2 arrangement :. Mold of 1401
 arrangement :. Amino acid topology :. Kind of straight-chain-shape arrangement :. Protein origin
 living thing name :. Information besides the feature on mouse arrangement : mouse WRN. helicase
 arrangement: . Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser 1 5 10 15 Met Gln
 Ser Gln Arg Cys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Cys Val Gln Lys20 25 30 Ser Val Leu Glu Asp Asn Leu
 Pro. Phe Leu Glu Phe Pro. Gly Ser Ile 35 40 45. Val Tyr Ser Tyr Glu. Ala Ser Asp Cys Ser. Phe
 Leu Ser Glu Asp. Ile 50 55 60 Ser Met. Arg Leu Ser Asp Gly. Asp Val Val Gly Phe. Asp Met Glu
 Trp 65 70. 75 Pro Pro Ile Tyr Lys. Pro Gly Lys Arg Ser. Arg Val Ala Val Ile. Gln 80 85 90 95Leu
 Cys. Val Ser Glu Asn Lys. Cys Tyr Leu Phe His. Ile Ser Ser Met 100. 105 110 Ser Val Phe. Pro
 Gln Gly Leu Lys Met Leu Leu Glu Asn Lys Ser Ile 115 120 125 Lys Lys Ala Gly Val Gly Ile Glu
 Gly Asp Gln. Trp Lys Leu Leu Arg. 130 135 140 Asp Phe. Asp Val Lys Leu Glu. Ser Phe Val Glu
 Leu. Thr Asp Val Ala 145. 150 155 Asn Glu Lys. Leu Lys Cys Ala Glu. Thr Trp Ser Leu Asn. Gly
 Leu Val 160 165. 170 175 Lys His Val. Leu Gly Lys Gln Leu. Leu Lys Asp Lys Ser. Ile Arg Cys
 180 185. 190 Ser Asn Trp Ser. Asn Phe Pro Leu Thr. Glu Asp Gln Lys Leu. Tyr Ala 195 200 205.
 Ala Thr Asp Ala Tyr. Ala Gly Leu Ile Ile. Tyr Gln Lys Leu Gly Asn 210 215 220 Leu Gly Asp Thr
 Val Gln Val Phe Ala Leu Asn Lys Ala Glu Glu Asn 225 230 235 Leu Pr. o Leu Glu Met Lys Lys.
 Gln Leu Asn Leu Ile. Ser Glu Glu Met 240. 245 250 255 Arg Asp. Leu Ala Asn Arg Phe. Pro Val
 Thr Cys Arg. Asn Leu Glu Thr 260. 265 270 Leu Gln Arg. Val Pro Val Ile Leu. Lys Ser Ile Ser Glu.
 Asn Leu Cys 275 280. 285 Ser Leu Arg Lys. Val Ile Cys Gly Pro. Thr Asn Thr Glu Thr. Arg Leu
 290 295 300. Lys Pro Gly Ser Ser. Phe Asn Leu Leu Ser. Ser Glu Asp Ser Ala. Ala 305 310 315
 Ala. Gly Glu Lys Glu Lys Gln Ile Gly Lys His Ser Thr Phe Ala Lys 320 325 330 335 Ile Lys Glu
 Glu Pro Trp Asp Pro Glu Leu A. sp Ser Leu Val Lys Gln. 340 345 350 Glu Glu. Val Asp Val Phe
 Arg. Asn Gln Val Lys Gln. Glu Lys Gly Glu 355. 360 365 Ser Glu Asn. Glu Ile Glu Asp Asn. Leu
 Leu Arg Glu Asp. Met Glu Arg 370 375. 380 Thr Cys Val Ile. Pro Ser Ile Ser Glu. Asn Glu Leu Gln
 Asp. Leu Glu 385 390 395. Gln Gln Ala Lys Glu. Glu Lys Tyr Asn Asp Val Ser His Gln Leu Ser
 400 405 410 415 Glu His Leu Ser Pro Asn Asp Asp Glu Asn Asp Ser Ser Tyr Ile Ile 420 425 430

Glu Ser Asp Glu Asp Leu Glu. Met Glu Met Leu Lys. Ser Leu Glu Asn 435. 440 445 Leu Asn Ser.
 Asp Met Val Glu Pro. Thr His Ser Lys Trp. Leu Glu Met 450 455. 460 Gly Thr Asn Gly. Cys Leu
 Pro Pro Glu. Glu Glu Asp Gly His. Gly Asn 465 470 475. Glu Ala Ile Lys Glu. Glu Gln Glu Glu Glu.
 Asp His Leu Leu Pro. Glu 480 485 490 495. Pro Asn Ala Lys Gln. Ile Asn Cys Leu Lys. Thr Tyr
 Phe Gly His. Ser 500 505 510 Ser Phe Lys Pro Val Gln Trp Lys Val Ile His Ser Val Leu Glu Glu
 515 520 525 Arg Arg Asp Asn Val Val Va. I Met Ala Thr Gly Tyr. Gly Lys Ser Leu 530. 535 540
 Cys Phe Gln. Tyr Pro Pro Val Tyr. Thr Gly Lys Ile Gly. Ile Val Ile 545 550. 555 Ser Pro Leu Ile.
 Ser Leu Met Glu Asp. Gln Val Leu Gln Leu. Glu Leu 560 565 570. 575 Ser Asn Val Pro. Ala Cys
 Leu Leu Gly. Ser Ala Gln Ser Lys. Asn Ile 580 585 590. Leu Gly Asp Val Lys. Leu Gly Lys Tyr
 Arg. Val Ile Tyr Ile Thr. Pro 595 600 605 Glu. Phe Cys Ser Gly Asn. Leu Asp Leu Leu Gln Lys
 Leu Asp Ser Ser 610 615 620 Ile Gly Ile Thr Leu Ile Ala Val Asp Glu Ala His Cys Ile Ser Glu 6. 25
 630 635 Trp Gly His. Asp Phe Arg Ser Ser. Phe Arg Met Leu Gly. Ser Leu Lys 640 645. 650 655
 Thr Ala Leu. Pro Leu Val Pro Val. Ile Ala Leu Ser Ala. Thr Ala Ser 660 665. 670 Ser Ser Ile Arg.
 Glu Asp Ile Ile Ser. Cys Leu Asn Leu Lys. Asp Pro 675 680 685. Gln Ile Thr Cys Thr. Gly Phe
 Asp Arg Pro. Asn Leu Tyr Leu Glu. Val 690 695 700 Gly. Arg Lys Thr Gly Asn. Ile Leu Gln Asp
 Leu. Lys Pro Phe Leu Val. 705 710 715 Arg Lys Ala Ser Ser Ala Trp Glu Phe Glu Gly Pro Thr Ile
 Ile Tyr 720 725 730 735 Cys Pro Ser Arg Lys Met. Thr Glu Gln Val Thr. Ala Glu Leu Gly Lys. 740
 745 750 Leu Asn. Leu Ala Cys Arg Thr. Tyr His Ala Gly Met. Lys Ile Ser Glu 755. 760 765 Arg
 Lys Asp. Val His His Arg Phe. Leu Arg Asp Glu Ile. Gln Cys Val 770 775. 780 Val Ala Thr Val. Ala
 Phe Gly Met Gly. Ile Asn Lys Ala Asp. Ile Arg 785 790 795. Gln Val Ile His Tyr. Gly Ala Pro Lys
 Glu Met Glu Ser Tyr Tyr Gln 800 805 810 815 Glu Ile Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Leu Gln Ser
 Ser Cys His Leu 820 825 830 Leu Trp Ala Pro Ala Asp Phe. Asn Thr Ser Arg Asn. Leu Leu Ile
 Glu 835. 840 845 Ile His Asp. Glu Lys Phe Arg Leu. Tyr Lys Leu Lys Met. Met Val Lys 850 855.
 860 Met Glu Lys Tyr. Leu His Ser Ser Gln. Cys Arg Arg Arg Ile. Ile Leu 865 870 875. Ser His Phe
 Glu Asp. Lys Cys Leu Gln Lys. Ala Ser Leu Asp Ile. Met 880 885 890 895. Gly Thr Glu Lys Cys.
 Cys Asp Asn Cys Arg. Pro Arg Leu Asn His. Cys 900 905 910 Leu Thr Ala Asn Asn Ser Glu Asp
 Ala Ser Gln Asp Phe Gly Pro Gln 915 920 925 Ala Phe Gln Leu Leu Ser aluminum. a Val Asp Ile
 Leu Gln. Glu Lys Phe Gly 930. 935 940 Ile Gly Ile. Pro Ile Leu Phe Leu. Arg Gly Ser Asn Ser. Gln
 Arg Leu 945 950. 955 Pro Asp Lys Tyr. Arg Gly His Arg Leu. Phe Gly Ala Gly Lys. Glu Gln 960
 965 970. 975 Ala Glu Ser Trp. Trp Lys Thr Leu Ser. His His Leu Ile Ala. Glu Gly 980 985 990. Phe
 Leu Val Glu Val. Pro Lys Glu Asn Lys. Tyr Ile Lys Thr Cys. Ser 995 1000 1005 Leu. Thr Lys Lys
 Gly Arg. Lys Trp Leu Gly Glu Ala Ser Leu Gln Ser 1010 1015 1020 Pro Pro Ser Leu Leu Glu
 Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg. Lys 1025 1030 1035 Val. Leu Leu Pro Ser Ser. Asn Pro Val
 Ser Pro. Glu Thr Thr Gln His. 1040 1045 1050 1055. Ser Ser Asn Gln Asn. Pro Ala Gly Leu Thr.
 Thr Lys Gln Ser Asn. Leu 1060 1065 1070 Glu. Arg Thr His Ser Tyr. Lys Val Pro Glu Lys. Val Ser
 Ser Gly Ser. 1075 1080 1085 Asn Ile. Pro Lys Lys Ser Ala. Val Met Pro Ser Pro. Gly Thr Ser Ser
 1090. 1095 1100 Ser Pro Leu. Glu Pro Ala Ile Ser. Ala Gln Glu Leu Asp. Ala Arg Thr 1105 1110
 1115 Gly Leu Tyr Ala Arg Leu Val Glu Ala Arg Gln Lys His Ala Asn Lys 1120 1125 1130 1. 135
 Met Asp Val Pro. Pro Ala Ile Leu Ala. Ala Asn Lys Val Leu. Leu Asp 1140 1145 1150. Met Ala
 Lys Met Arg. Pro Thr Thr Val Glu. Asn Met Lys Gln Ile. Asp 1155 1160 1165 Gly. Val Ser Glu Gly
 Lys. Ala Ala Leu Leu Ala. Pro Leu Val Gly Val. 1170 1175 1180 Ile Lys. His Phe Cys Gln Val. Thr
 Ser Val Gln Thr. Asp Leu Leu Ser 1185. 1190 1195 Ser Ala Lys. Pro His Lys Glu Gln. Glu Lys Ser
 Gln Glu Met Glu Lys 1200 1205 1210 1215 Lys Asp Cys Ser Leu Pro Gln Ser Val Ala Val Thr Tyr
 Thr Leu Phe 1220 1225 1230 Gln Glu Lys Lys Met Pro. Leu His Ser Ile Ala. Glu Asn Arg Leu Leu.
 1235 1240 1245 Pro Leu. Thr Ala Val Gly Met. His Leu Ala Gln Ala. Val Lys Ala Gly 1250. 1255
 1260 Cys Pro Leu. Asp Met Glu Arg Ala. Gly Leu Thr Pro Glu. Thr Trp Lys 1265 1270. 1275 Ile
 Ile Met Asp. Val Ile Arg Asn Pro. Pro Ile Asn Ser Asp. Met Tyr 1280 1285 1290. 1295 Lys Val Lys
 Leu. Ile Arg Met Leu Val. Pro Glu Asn Ile Asp. Thr Tyr 1300 1305 1310 Leu Ile His Met Ala Ile
 Glu Ile Leu Gln Ser Gly Ser Asp Ser Arg 1315 1320 1325 Thr. Gln Pro Pro Cys Asp. Ser Ser Arg
 Lys Arg. Arg Phe Pro Ser Ser. 1330 1335 1340 Ala Glu. Ser Cys Glu Ser Cys. Lys Glu Ser Lys
 Glu. Val Val Thr Glu 1345. 1350 1355 Thr Lys Ala. Ser Ser Ser Glu Ser. Lys Arg Lys Leu Pro. Glu
 Trp Phe 1360 1365. 1370 1375 Ala Lys Gly. Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser
 Met 1380 1385 1390 Ala Lys Thr Lys Lys Lys GlyLeu Phe Ser 1395 1400[0138]array number: —
 length [of 3 arrangement]: — mold [of 4206 arrangement]: — number [of nucleic acid

chains]: — double strand topology: — kind [of straight-chain-shape arrangement]: — cDNA to mRNA origin living thing name: — information: besides the feature of mouse arrangement — mouse WRN helicase arrangement ATGGAAACCA : CTTCACTACA GCGGAAATTT. CCAGAATGGA TGTCTATGCA. GAGTCAAAGA 60TGTGCTACAG. AAGAAAAGGC CTGCGTTCAG. AAGAGTGTTT TTGAAGATAA. TCTCCCATTC 120TTAGAATTCC. CTGGATCCAT TGTTTACAGT. TATGAAGCTA GTGATTGCTC. CTTCTGTCT 180GAAGACATTA. GCATGCGTCT GTCTGATGGC. GATGTGGTGG GATTTGACAT. GGAATGGCCG 240CCCATATACA. AGCCAGGGAA ACGAAGCAGA GTCGCAGTGA TCCAGTTGTG TGTGTCTGAG 300 AACAAATGTT ACTTGTTTCA CATTCTTCC ATGTCAGTTT TCCCCAGGG A. TAAAAAATG 360TTACTAGAAA. ACAAATCAAT TAAGAAGGCA. GGGGTTGGGA TTGAAGGGGA. CCAGTGGAAA 420CTTCTGCGTG. ATTTTGACGT CAAGTTGGAG. AGTTTTGTGG AGCTGACGGA. TGTTGCCAAT 480GAAAAGTTGA. AGTGCGCAGA GACCTGGAGC. CTCAATGGTC TGGTTAAACA. CGTCTTAGGG 540AAACAACCTTT. TGAAAGACAA GTCCATCCGC. TGCAGCAATT GGAGTAATTT. CCCCTCACT 600GAGGACCAGA. AACTGTATGC AGCCACTGAT. GCCTATGCTG GTCTTATCAT. CTATCAAAAA 660TTAGGAAATT. TGGGTGATAC TGTGCAAGTG. TTTGCTCTAA ATAAAGCAGA GGAAACCTA 720 CCTCTGGAGA TGAAGAAACA GTTGAATTTA ATCTCCGAAG AAATGAGGGA TCTAGCCAAT 780CGT. TTTCCAG TCACTTGCAAG AAATTTGGAA ACTCTCCAGA GGGTTCCTGT AATATTGAAG 840 AGTATTTGAG AAAATCTCTG TTCATTGAGA AAAGTGATCT. GTGGTCCTAC AAACACTGAG. 900 ACTAGACTGA AGCCGGGCAG. TAGTTTTAAT TTAAGTGCAT. CAGAAGATTC AGCTGCTGCT. 960 GGAGAAAAAG AGAAACAGAT. TGGAAAACAT AGTACTTTTG. CTAAATTAAG AGAAGAACCA. 1020 TGGGACCCAG AACTTGACAG. TTTAGTGAAG CAAGAGGAGG. TTGATGTATT TAGAAATCAA. 1080 GTGAAGCAAG AAAAAGGTGA. ATCTGAAAAT GAAATAGAAG. ATAATCTGTT GAGAGAAGAT 1140 ATGGAAAGAA CTTGTGTGAT TCCTAGTATT TCAGAAAATG AACTCCAAGA TTTGGAACAG 1200CAAGCTAAAG AAGA. AAAATA TAATGATGTT TCTCACCAAC TTTCTGAGCA TTTATCTCCC 1260 AATGATGATG AGAATGACTC CTCCTATATA ATTGAAAGTG. ATGAAGATTT GGAAATGGAG. 1320 ATGCTGAAGT CTTTAGAAAA. CCTAAATAGT GACATGGTGG. AACCCTACTCA CTCTAAATGG. 1380 TTGGAAATGG GAACCAATGG. GTGTCTTCTC CTGAGGAGG. AAGATGGACA CGGAAATGAA. 1440 GCCATCAAAG AGGACGAGGA. AGAAGAGGAC CATTATTGTC. CGGAACCCAA CGCAAAGCAA. 1500 ATTAATTGCC TCAAGACCTA. TTTCCGACAC AGCAGTTTTA. AACCGGTTCA GTGGAAAGTC. 1560 ATCCATTCTG TATTAGAAGA. GAGAAGAGAT AATGTTGTTG. TCATGGCAAC TGGATATGGG 1620 AAGAGTCTGT GCTTCCAGTA TCCGCCTGTT TATACAGGCA AGATTGGCAT TGTCATTTC 1680CCTCTCAT. TT CCTTAATGGA AGACCAAGTC. CTCCAGCTTG AGCTATCCAA. TGTTCCAGCC 1740TGTTTACTTG. GATCTGCACA ATCAAAAAAT. ATTCTAGGAG ATGTTAAATT. AGGCAAATAT 1800AGGGTCATCT. ACATAACTCC AGAGTTCTGT. TCTGGTAACT TGGATCTACT. CCAGAACTT 1860GACTCTAGTA. TTGGCATCAC TCTCATTGCT. GTGGATGAGG CTCACTGCAT. TTCAGAGTGG 1920GGCCATGATT. TCAGAAGTTC ATTCAGGATG. CTGGGCTCTC TTAAACAGC. GCTCCCATTTG 1980GTTCCAGTCA. TTGCACTCTC CGCTACTGCA. AGCTCTTCCA TCCGGGAAGA. CATTATAAGC 2040 TGCTTAAACC TGAAAGACCC TCAGATCACC TGCATGGAT TTGATCGGCC AAATCTGTAC 2100TTAGAAGTTG GACGGA. AAAC AGGGAACATC CTTCAGGATC. TAAAGCCGTT TCTCGTCCGA. 2160 AAGGCAAGTT CTGCCTGGGA. ATTTGAAGGT CCAACCATCA. TCTATTGTCC TTCGAGAAAA. 2220 ATGACAGAAC AAGTTACTGC. TGAAGTTGGG AAAGTGAAGT. TAGCCTGCAG AACATACCAC. 2280 GCTGGCATGA AAATTAGCGA. AAGGAAGGAC GTTCATCATA. GGTTCTTGAG AGATGAAATT. 2340 CAGTGTGTTG TAGCTACTGT. AGCTTTTGGA ATGGGCATTA. ATAAAGCTGA CATTGCGCAA. 2400 GTTATTCATT ATGGTGCGCC. TAAGGAAATG GAATCCTATT. ACCAGGAAAT TGGTAGAGCT 2460 GGCCGGGATG GACTTCAGAG TTCCTGTCAC TTGCTCTGGG CTCCAGCAGA CTTTAACACA 2520 TCCAGGAATC TCCTTATTGA GATT. CACGAT GAAAAGTTCC GGTTATATAA. ATTAAGATG 2580ATGGTAAAGA. TGGAAAAATA CCTTCACTCC. AGTCAGTGTA GGCGACGAAT.

CATCTTGTCC 2640CATTTTGAGG. ACAAATGTCT GCAGAAGGCC. TCCTTGGACA
 TTATGGGAAC. TGAAAAATGC 2700TGTGATAATT. GCAGGCCCAG GCTGAATCAT.
 TGCCTTACTG CTAACAACCTC. AGAGGACGCA 2760TCCCAAGACT. TTGGGCCACA
 AGCATTCCAG. CTACTGTCTG CTGTGGACAT. CCTGCAGGAG 2820AAATTTGGAA.
 TTGGGATTCC GATCTTATTT. CTCCGAGGAT CTAATTCTCA. GCGTCTTCCT 2880
 GATAAATATC GGGGTCACAG GCTCTTTGGT GCTGGAAAGG AGCAAGCAGA AAGTTGGTGG
 2940 AAGACTCTTT CTCACCATCT CATAGCTGAA GG. ATTCTTGG TAGAGGTTCC.
 CAAGGAAAAC 3000AAATATATAA. AGACATGTTC CCTCACAAAA. AAGGGTAGAA
 AGTGGCTTGG. AGAAGCCAGT 3060TTGCAGTCTC. CTCCGAGCCT TCTCCTTCAA.
 GCTAATGAAG AGATGTTTCC. AAGGAAAGTT 3120CTGCTACCAA. GTTCTAATCC
 TGTATCTCCA. GAAACGACGC AACATTCCTC. TAATCAAAAC 3180CCAGCTGGAT.
 TAACTACCAA GCAGTCTAAT. TTGGAGAGGA CGCATTCTTA. CAAAGTGCCT
 3240GAGAAAGTTT. CTTCTGGGAG TAACATTCTT. AAAAAAGTG CCGTGATGCC.
 GTCACCAGGA 3300ACATCTTCCA. GCCCCTTAGA ACCTGCCATC TCAGCCCAAG
 AGCTGGACGC TCGGACTGGG 3360 CTATATGCCA GGTTGGTGGG AGCAAGGCAG
 AAACACGCTA. ATAAGATGGA TGTACCTCCA. 3420 GCTATTTTAG CAGCAAACAA.
 GGTTTTGCTG GACATGGCTA. AAATGAGACC GACTACTGTT. 3480 GAAAACATGA
 AACAGATCGA. CGGTGTCTCT GAAGGCAAAG. CTGCTCTGTT GGCCCCCTCTG. 3540
 GTGGGAGTCA TCAAACATTT. CTGTCAAGTA ACTAGTGTTT. AGACAGACCT CTTTCCAGT.
 3600 GCCAAACCTC ACAAGGAACA. GGAGAAAAGT CAGGAGATGG. AAAAGAAAGA
 CTGCTCACTC. 3660 CCCAGTCTG TGGCCGTCAC. ATACACTTTA TTCCAGGAAA.
 AGAAAATGCC CTTACACAGC. 3720 ATAGCTGAGA ACAGGCTCCT. GCCTCTCACA
 GCAGTCGGCA TGCACCTAGC CCAGGCGGTG 3780 AAAGCCGGCT GCCCCTGGA
 TATGGAGCGA GCTGGCCTGA CCCAGAGA. C TTGGAAGATT 3840ATTATGGATG.
 TCATCCGAAA CCCTCCCATC. AACTCAGATA TGTATAAAGT. TAACTCATC
 3900AGAATGTTAG. TTCCTGAAAA CATCGACACG. TACCTCATCC ACATGGCGAT.
 TGAGATTCTT 3960CAGAGTGGTT. CCGACAGCAG AACCCAGCCT. CCTTGTGATT
 CCAGCAGGAA. GAGGCGTTTC 4020CCCAGCTCTG. CAGAGAGTTG TGAGAGCTGT.
 AAGGAGAGCA AAGAGGTGGT. CACCGAGACC 4080AAGGCATCAT. CTTCAGAGTC
 AAAGAGAAAA. TTACCTGAGT GGTTCGCCAA AGGAAATGTG 4140 CCCTCAGCTG
 ATACCGGCAG CTCATCATCA ATGGCCAAAG CCAAAAAGAA AGGTCTCTTT 4200AGTTAA

4206[0139]array number: — length [of 4 arrangement]: — mold [of 24 arrangement]: —
 number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA)
 besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: CGCCAGGGTT TTCCAGTCA CGAC 24[0140]array number: — length [of 5
 arrangement]: — mold [of 22 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single
 strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape
 arrangement

Arrangement: TCACACAGGA AACAGCTATG AC 22[0141]array number: — length [of 6
 arrangement]: — mold [of 19 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single
 strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape
 arrangement

Arrangement: GATTTAGGTG AACTATAG 19[0142]array number: — length [of 7
 arrangement]: — mold [of 20 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single
 strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape
 arrangement

Arrangement: TAATACGACT CACTATAGGG 20[0143]array number: — length [of 8
 arrangement]: — mold [of 22 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single
 strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape
 arrangement

Arrangement: ACCGCTTGGG ATAAGTGCAT GC 22[0144]array number: — length [of 9
 arrangement]: — mold [of 24 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single
 strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape
 arrangement

Arrangement: GCATTAATAA AGCTGACATT CGCC 24[0145]array number: — length [of 10 arrangement]: — mold [of 27 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: GCTGGAATGC TTGTGGCCCA AAGTCTT 27[0146]array number: — length [of 11 arrangement]: — mold [of 28 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: TGAAGTCCAT TCCCGGCCAG CTCTACCG28[0147]array number: — length [of 12 arrangement]: — mold [of 30 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: TCTCCAGCAG CAGCTGATCT TCTGATGACA 30[0148]array number: — length [of 13 arrangement]: — mold [of 27 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: TGGACGCTCG GACTGGGCTA TATGCCA 27[0149]array number: — length [of 14 arrangement]: — mold [of 26 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: AGCTGCTCTG TTGGCCCCTC TGGTGG 26[0150]array number: — length [of 15 arrangement]: — mold [of 27 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: CCATCCTAAT ACGACTCACT ATAGGGC 27[0151]array number: — length [of 16 arrangement]: — mold [of 23 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — single strand topology: — nucleic acid (synthetic DNA) besides kind: of straight-chain-shape arrangement

Arrangement: ACTCACTATA GGGCTCGAGC GGC 23[0152]array number: — length [of 17 arrangement]: — mold [of 1404 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — double strand topology: — kind [of straight-chain-shape arrangement]: — cDNA to mRNA origin living thing name: — information: besides the feature of mouse arrangement — mouse WRN helicase arrangement GCATTAATAA : AGCTGACATT CGCCAAGTTA. TTCATTATGG TGCGCCTAAG. GAAATGGAAT 60CCTATTACCA. GGAAATTGGT AGAGCTGGCC. GGGATGGACT TCAGAGTTCC. TGTCACCTTG 120TCTGGGCTCC. AGCAGACTTT AACACATCCA. GGAATCTCCT TATTGAGATT. CACGATGAAA 180AGTTCCGGTT. ATATAAATTA AAGATGATGG. TAAAGATGGA AAAATACCTT. CACTCCAGTC 240AGTGATGGCG. ACGAATCATC TTGTCCCAT TTGAGGACAA ATGTCTGCAG AAGGCCTCCT 300 TGGACATTAT GGGAAGTGA AAATGCTGTG ATAATTGCAG GCCCAGGCTG. AATCATTGCC 360TTACTGCTAA. CAACTCAGAG GACGCATCCC. AAGACTTTGG GCCACAAGCA. TTCCAGCTAC 420TGTCTGCTGT. GGACATCCTG CAGGAGAAAT. TTGGAATTGG GATTCCGATC. TTATTTCTCC 480GAGGATCTAA. TTCTCAGCGT CTTCTGATA. AATATCGGGG TCACAGGCTC. TTTGGTGCTG 540GAAAGGAGCA. AGCAGAAAGT TGGTGAAGA. CTCTTTCTCA CCATCTCATA. GCTGAAGGAT 600CTTGGTAGA. GGTTCCTCAAG GAAAACAAAT. ATATAAAGAC ATGTTCCCTC. ACAAAAAAGG 660GTAGAAAGTG. GCTTGGAGAA GCCAGTTTGC. AGTCTCCTCC GAGCCTTCTC CTTCAAGCTA 720 ATGAAGAGAT GTTTCCAAGG AAAGTTCTGC TACCAAGTTC TAATCCTGTA TCTCCAGAAA 780CG. ACGCAACA TTCCTCTAAT. CAAAACCCAG CTGGATTAAC. TACCAAGCAG TCTAATTTGG. 840 AGAGGACGCA TTCTTACAAA. GTGCCTGAGA AAGTTTCTTC. TGGGAGTAAC ATTCCTAAAA. 900 AAAGTGCCGT GATGCCGTCA. CCAGGAACAT CTTCCAGCCC. CTTAGAACCT GCCATCTCAG. 960 CCCAAGAGCT GGACGCTCGG. ACTGGGCTAT ATGCCAGGTT. GGTGGAAGCA AGGCAGAAAC. 1020 ACGCTAATAA GATGGATGTA. CCTCCAGCTA TTTTAGCAGC. AAACAAGGTT TTGCTGGACA. 1080 TGGCTAAAAT GAGACCGACT. ACTGTTGAAA

ACATGAAACA. GATCGACGGT GTCTCTGAAG 1140 GCAAAGCTGC TCTGTTGGCC
 CCTCTGGTGG GAGTCATCAA ACATTTCTGT CAAGTAACTA 1200GTGTTTCAGAC AGA.
 CCTCCTT TCCAGTGCCA AACCTCACAA GGAACAGGAG AAAAGTCAGG 1260
 AGATGGAAAA GAAAGACTGC TCACTCCCCC AGTCTGTGGC CGTCACATAC. ACTTTATTCC
 1320 AGGAAAAGAA AATGCCCTTA CACAGCATAG CTGAGAACAG GCTCCTGCCT
 CTCACAGCAG 1380 TCGGCATGCA CTTATCCCAA GCGG 1404[0153]array number: — length
 [of 18 arrangement]: — mold [of 1781 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: —
 double strand topology: — kind [of straight-chain-shape arrangement]: — cDNA to mRNA
 origin living thing name: — information: besides the feature of mouse arrangement — mouse
 WRN helicase arrangement TCTAAATAAA : GCAGAGGAAA ACCTACCTCT. GGAGATGAAG
 AAACAGTTGA. ATTTAATCTC 60CGAAGAAATG. AGGGATCTAG CCAATCGTTT.
 TCCAGTCACT TGCAGAAATT. TGGAACTCT 120CCAGAGGGTT. CCTGTAATAT
 TGAAGAGTAT. TTCAGAAAAT CTCTGTTTAT. TGAGAAAAGT 180GATCTGTGGT.
 CCTACAAACA CTGAGACTAG. ACTGAAGCCG GGCAGTAGTT. TTAATTTACT
 240GTCATCAGAA. GATTCAGCTG CTGCTGGAGA AAAAGAGAAA CAGATTGGAA
 AACATAGTAC 300 TTTTGCTAAA ATTAAAGAAG AACCATGGGA CCCAGAACTT
 GACAGTTTAG. TGAAGCAAGA 360GGAGGTTGAT. GTATTTAGAA ATCAAGTGAA.
 GCAAGAAAAA GGTGAATCTG. AAAATGAAAT 420AGAAGATAAT. CTGTTGAGAG
 AAGATATGGA. AAGAACTTGT GTGATTCCTA. GTATTTTCTA 480AAATGAACTC.
 CAAGATTTGG AACAGCAAGC. TAAAGAAGAA AAATATAATG. ATGTTTCTCA
 540CCAACCTTCT. GAGCATTTAT CTCCCAATGA. TGATGAGAAT GACTCCTCCT.
 ATATAATTGA 600AAGTGATGAA. GATTTGGAAA TGGAGATGCT. GAAGTCTTTA
 GAAAACCTAA. ATAGTGACAT 660GGTGGAACCC. ACTCACTCTA AATGGTTGGA.
 AATGGGAACC AATGGGTGTC TTCCTCCTGA 720 GGAGGAAGAT GGACACGGAA
 ATGAAGCCAT CAAAGAGGAG CAGGAAGAAG AGGACCATT 780AT. TGCCGGAA
 CCCAACGCAA. AGCAAATTAA TTGCCTCAAG. ACCTATTTCTG GACACAGCAG. 840
 TTTTAAACCG GTTCAGTGGA. AAGTCATCCA TTCTGTATTA. GAAGAGAGAA GAGATAATGT.
 900 TGTGTGTCATG GCAACTGGAT. ATGGGAAGAG TCTGTGCTTC. CAGTATCCGC
 CTGTTTATAC. 960 AGGCAAGATT GGCATTGTCA. TTTACCTCT CATTTCCTTA.
 ATGGAAGACC AAGTCCTCCA. 1020 GCTTGAGCTA TCCAATGTTT. CAGCCTGTTT
 ACTTGATCT. GCACAATCAA AAAATATTCT. 1080 AGGAGATGTT AAATTAGGCA.
 AATATAGGGT CATCTACATA. ACTCCAGAGT TCTGTTCTGG 1140 TAACTTGGAT
 CTACTCCAGA AACTTGACTC TAGTATTGGC ATCACTCTCA TTGCTGTGGA
 1200TGAGGCTCAC TGC. ATTTTCTTAAA ACAGCGCTCC CATTGGTTCC AGTCATTGCA
 GGATGCTGGG 1260 CTCTCTTAAA ACAGCGCTCC CATTGGTTCC AGTCATTGCA
 CTCTCCGCTA. CTGCAAGCTC 1320TTCCATCCGG. GAAGACATTA TAAGCTGCTT.
 AAACCTGAAA GACCCTCAGA. TCACCTGCAC 1380TGGATTTGAT. CGGCCAAATC
 TGTACTTGA. AGTTGGACGG AAAACAGGGA. ACATCCTTCA 1440GGATCTAAAG.
 CCGTTTCTCG TCCGAAAGGC. AAGTTCTGCC TGGGAATTTG. AAGGTCCAAC
 1500CATCATCTAT. TGTCCTTCGA GAAAAATGAC. AGAACAAGTT ACTGCTGAAC.
 TTGGGAAACT 1560 GAACTTAGCC TGCAGAACAT ACCACGCTGG CATGAAAATT
 AGCGAAAGGA AGGACGTTCA 1620 TCATAGGTTT CTGAGAGATG A. AATTCAGTG
 TGTTGTAGCT. ACTGTAGCTT TTGGAATGGG. 1680 CATTAATAAA GCTGACATTC.
 GCCAAGTTAT TCATTATGGT GCGCCTAAGG AAATGGAATC 1740 CTATTACCAG
 GAAATTGGTA GAGCTGGCCG GGATGGACTT C 1781[0154]array number: — length [of 19
 arrangement]: — mold [of 1164 arrangement]: — number [of nucleic acid chains]: — double
 strand topology: — kind [of straight-chain-shape arrangement]: — cDNA to mRNA origin living
 thing name: — information: besides the feature of mouse arrangement — mouse WRN helicase
 arrangement GGCAGGCGCC : AGACCAGAAG TGCACCGAGG. CGCCCGTTGG TATAAAGTTA.
 GTAAATGTGA 60GGCCTGTCTC. GATGCCTGGG TCCTGGGCTT. TGGTTCTCAG
 TCCTCCATAA. ATCATCCTGC 120TGGAGGAGAA. GACCCTTAGA TCTGGCTCTT.
 CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC. AAATGAAAAT 180AAAATGGAAA. CCACTTCACT
 ACAGCGGAAA. TTTCCAGAAT GGATGTCTAT. GCAGAGTCAA 240AGATGTGCTA.
 CAGAAGAAAA GGCCTGCGTT CAGAAGAGTG TTCTTGAAGA TAATCTCCCA 300

TTCTTAGAAT TCCCTGGATC CATTGTTTAC AGTTATGAAG CTAGTGATTG C. TCCTTCCTG
 360TCTGAAGACA. TTAGCATGCG TCTGTCTGAT. GGCGATGTGG TGGGATTTGA.
 CATGGAATGG 420CCGCCCATAT. ACAAGCCAGG GAAACGAAGC. AGAGTCGCAG
 TGATCCAGTT. GTGTGTGTCT 480GAGAACAAAT. GTTACTTGTT TCACATTTCT.
 TCCATGTCAG TTTTCCCCCA. GGGATTAAAA 540ATGTTACTAG. AAAACAAATC
 AATTAAGAAG. GCAGGGGTTG GGATTGAAGG. GGACCAGTGG 600AAACTTCTGC.
 GTGATTTTGA CGTCAAGTTG. GAGAGTTTTG TGGAGCTGAC. GGATGTTGCC
 660AATGAAAAGT. TGAAGTGC GC AGAGACCTGG. AGCCTCAATG GTCTGGTTAA
 ACACGTCTTA 720 GGGAAACAAC TTTTGAAAGA CAAGTCCATC CGCTGCAGCA
 ATTGGAGTAA TTTCCCCCTC 780 ACTGAGGACC AGAACTGTA TGCAGCCACT
 GATGCCTATG CTGGTCTTAT CATCTATCAA 840AAATTAGGAA ATTTGGGTGA
 TACTGTGCAA GTGTTTGCTC TAAATAAAGC AGAGGAAAAC 900CTACCTCTGG.
 AGATGAAGAA ACAGTTGAAT. TTAATCTCCG AAGAAATGAG. GGATCTAGCC
 960AATCGTTTTT. CAGTCACTTG CAGAAATTTG. GAAACTCTCC AGAGGGTTC.
 TGTAATATTG 1020AAGAGTATTT. CAGAAAATCT CTGTTTATTG. AGAAAAGTGA
 TCTGTGGTCC. TACAAACACT 1080 GAGACTAGAC TGAAGCCGGG CAGTAGTTTT
 AATTTACTGT CATCAGAAGA TTCAGCTGCT 1140 GCTGGAGAAA AAGAGAAACA GATT 1164
 [0155]array number: — length [of 20 arrangement]: — mold [of 1276 arrangement]: —
 number [of nucleic acid chains]: — double strand topology: — kind [of straight-chain-shape
 arrangement]: — cDNA to mRNA origin living thing name: — information: besides the feature of
 mouse arrangement — mouse WRN helicase arrangement GCTGCTCTGT : TGGCCCCCTCT
 GGTGGGAGTC. ATCAAACATT TCTGTCAAGT. AACTAGTGTT 60CAGACAGACC.
 TCCTTTCCAG TGCCAAACCT. CACAAGGAAC AGGAGAAAAG. TCAGGAGATG
 120GAAAAGAAAG. ACTGCTCACT CCCCAGTCT. GTGGCCGTCA CATACACTTT.
 ATTCCAGGAA 180AAGAAAATGC. CTTACACAG CATAGCTGAG. AACAGGCTCC
 TGCCCTCTAC. AGCAGTCGGC 240ATGCACTTAG. CCCAGGCGGT GAAAGCCGGC
 TGCCCCCTGG ATATGGAGCG AGCTGGCCTG 300 ACCCCAGAGA CTTGGAAGAT
 TATTATGGAT GTCATCCGAA ACCCTCCCAT. CAACTCAGAT 360ATGTATAAAG.
 TTAAACTCAT CAGAATGTTA. GTTCCTGAAA ACATCGACAC. GTACCTCATC
 420CACATGGCGA. TTGAGATTCT TCAGAGTGGT. TCCGACAGCA GAACCCAGCC.
 TCCTTGTGAT 480TCCAGCAGGA. AGAGGCGTTT CCCCAGCTCT. GCAGAGAGTT
 GTGAGAGCTG. TAAGGAGAGC 540AAAGAGGTGG. TCACCGAGAC CAAGGCATCA.
 TCTTCAGAGT CAAAGAGAAA. ATTACCTGAG 600TGTTTGCCA. AAGGAAATGT
 GCCCTCAGCT. GATACCGGCA GCTCATCATC. AATGGCCAAG 660ACCAAAAAGA.
 AAGGTCTCTT TAGTTAAGAT. GACAACGATG GAACAGTTTG TGTGTCCTAC 720
 ATCTTCATTC CTATAAAGAA TGAAGAAGAAA TATTTTAACC TCAAAATTAT TTAAAGTCCA
 780AA. GTGAAGCT CACCTAAACG. TCGAGCCATA GAGTCTTTAA. TTGCCCGTTG
 GCAGTTGAGC. 840 TACAGTATCT GAACCTTCTG. AGACCCGGAG TGCAGCATAG.
 ACTGTGAAGT CGGCTTCCTT. 900 TCCGATTGCC TTCCGAACCG. GTGCCACTGT
 CAGGTTGCAG. TTTTCTTTT TTTGCAGCAG. 960 TGTGTGTTGG AAATGGAGGC.
 TGTGTCGCTT TGACATATAG. AACAGATCAA TAGTTGCATA. 1020 GGGACAGATA
 TGAAGATACA. GCCGGTCTTT GCTTTCTTAT. GCAGATGCCT GTATGACAGT. 1080
 ATCAGTGCAC CAGCCCAGCC. AGGAGAATC AGCTTCCATT. TAAAAAGGGA
 AAGCGGACAA 1140 GGACTCCAGT TACAGAAACA ACTAAATTTT ATGCATTTTC
 TGCAGTTTTT ATTATTTCTC 1200AATCAAAAGT GTT. TTTTGTA CTGAATAGTA
 AATATACTAA ATTTTCATTT TTAAAAAAA 1260AAAAAAAAAAAA AAAAAA

[Translation done.]